

RECEPȚIONAT

Ministerul Educației, Culturii și Cercetării

AVIZAT

Secția AȘM _____

RAPORT ȘTIINȚIFIC ANUAL privind executarea proiectului de cercetări științifice fundamentale (instituțional)

Proiectul: **Formarea sindromului C_4 la C_4 și C_3 plante: analiza structurală, funcțională și moleculară**

Cifra proiectului: 15.817.05.07F

Direcția strategică: 16.05 Biotehnologie

Termen de executare: 31 decembrie 2019

Directorul proiectului BALAUR Nicolae _____

Directorul institutului ANDRONIC Larisa _____

Chișinău, 2019

CUPRINS

1.	Lista executorilor (Anexa nr. 1)	3
2.	Obiectivele și sarcinile proiectului.....	4
3.	Rezultatele științifice ale cercetărilor efectuate în cadrul proiectului.....	4-7
4.	Rezumat.....	8
5.	Concluzii.....	9
7.	Anexe.....	11-15

LISTA EXECUTORILOR

Nr d/o	Numele/Prenumele	Titlul științific	Funcția în cadrul proiectului	Semnătura
1	Balaur Nicolae	dr. hab.	Director de proiect	
2	Voronțov Veaceslav	dr.	Cercetător științific coordonator	
3	Mereniuc Lilia	-	Cercetător științific	
4	Roșca Fiodor	-	Fiziolog cat. I.	

2. OBIECTIVELE ȘI SARCINILE PROIECTULUI PE a.2019.

2.1 Obiectivele

Analiza particularităților formării elementelor sindromului C_4 la plantele de grâu, crescute din semințe tratate cu acidul abscizic (ABA) în condiții de câmp deschis în comparație cu cele obținute în experimentele de laborator.

2.2 Sarcinile

- Studiarea postacțiunii diferitor concentrații de ABA asupra structurii anatomice și schimbului de CO_2 a frunzelor (după iernare) plantelor de grâu *Tr. aestivum* L. (soiurile Kuialnic și Meleag).
- Evaluarea schimbului de CO_2 (fotosinteza aparentă, fotorespirația aparentă, respirația) a spicului și structurilor anatomice a componentelor fotosintetic active ale spicului (gluma, arista) la plantele de grâu de *Tr. aestivum* L. (soiurile Kuialnic și Meleag), crescute din semințe tratate cu ABA.

3. Rezultatele științifice ale cercetărilor efectuate în cadrul proiectului pe parcursul anului 2019

Cercetările anterioare îndeplinite în cadrul Proiectului în condiții modelate de laborator au demonstrat că începutul primei etape de transformare a C₃ plantelor în plante de tip intermediar s-a produs probabil prin intermediul fitohormonului – acidul abscizic (ABA), care s-a evidențiat, că este prezent pe parcursul formării elementelor constitutive a sindromului C₄ la plantele C₄. Luând în considerație și unele rezultate din literatura de specialitate (Ueno, 1998; Taiyan Chen et al., 2011), în care s-a stabilit, că ABA poate avea rolul de inductor în formarea celulelor Kranț și activării ciclului C₄ de fotosinteză la plantele hidrofile (*Eliocharis vivipara*), în cercetările noastre (aa. 2017 și 2018), s-a încercat în premieră să se utilizeze ABA pentru inducerea elementelor sindromului C₄ la plantele de grâu (C₃ plante). Ca rezultat acestor cercetări s-au evidențiat schimbări structurale și funcționale, care indică faptul, că diferite concentrații de ABA (1,25 μM; 2,5 μM; 5,0 μM; 7,5 μM) induc în formarea sindromului C₄ aceleași particularități: micșorarea și majorarea nivelului fotosintezei aparente, fotorespirației aparente, respirației și transpirației; micșorarea distanței între vasele conducătoare; majorarea volumului celulelor din jurul vasului conducător și „încărcarea” lor cu cloroplaste, activând în așa mod funcția fotosintetică acestor celule.

Aceste particularități au fost evidențiate în experiențele modelate de laborator (temperaturi constante în perioada de iluminare și întuneric; diferite, dar constante temperaturi de călire și vernalizare; iluminare constantă și fotoperiodicitate constantă; umiditatea solului în vasele de vegetație optimală și constantă).

Condițiile ecologice în care cresc și se dezvoltă plantele pe câmpurile deschise sunt foarte diferite pe parcursul ontogenezei plantelor.

Din motivele enumerate și principialitatea rezultatelor obținute în condiții modelate de creștere a plantelor privind posibilitatea inițierii precondițiilor de trecere de la C₃ tip de fotosinteză la C₄ tip de fotosinteză, a fost necesar de a studia impactul ABA asupra formării elementelor sindromului C₄ și productivității semincere a plantelor crescute în condiții ecologice de câmp deschis.

3.1. Studiarea postacțiunii diferitor concentrații de ABA asupra structurii anatomice și schimbului de CO₂ a frunzelor (după iernare) plantelor de grâu *Tr. aestivum* (soiurile Kuialnic și Meleag).

3.1.1. Schimbările structurale cantitative a frunzelor plantelor de grâu.

O analiză comparativă a structurii anatomice a frunzelor a șaptea și flag, crescute în câmp, deschis cu cele obținute în condiții de laborator (a. 2018), indiferent de concentrația ABA, evidențiază aceleași particularități: micșorarea distanței între vasele conducătoare (pentru soiul Kuialnic de la $97,2 \pm 1,73$ – martor; până la $89,0 \pm 2,03$ concentrația 7,5 μm și de la $101,3 \pm 1,28$ până la $92,9 \pm 1,85$ respectiv pentru soiul Meleag); se micșorează numărul celulelor de mezofil, pe când numărul de celule din jurul vasului conducător rămân la nivelul martorului; se majorează volumul celulelor din jurul vasului conducător, pe când a mezofilului se micșorează; celulele din jurul vasului conducător se „încarcă” cu cloroplaste.

3.1.2. Schimbările structurale calitative a frunzelor plantelor de grâu.

Una din principalele și principialele modificări în frunzele plantelor de grâu în experiențele modelate de laborator a fost, că ABA induce apariția și „încărcarea” celulelor din jurul vasului conducător (celule de tip Kranț) cu cloroplaste. Asemenea celule la frunzele martor a plantelor de grâu, indiferent de numărul frunzei, sunt transparente sau conțin cloroplaste singulare.

Această particularitate se evidențiază și la frunzele plantelor de grâu crescute în condiții de câmp deschis: la frunzele plantelor - martor (soiurile Kuialnic și Meleag) crescute din semințe uscate și înmuiate în H₂O – 24 ore diferențe nu se evidențiază, adică, înmuierea în H₂O- 24 ore – timpul, în care semințele se tratau cu ABA, nu influențează asupra stării structurale a celulelor din jurul vasului conducător. Aceste celule sunt transparente, lipsite de cloroplaste și volumul lor vizual sunt mai mici, față de celulele din jurul vasului conducător a frunzelor plantelor crescute din semințe tratate cu ABA, care sunt „încărcate” cu cloroplaste.

3.1.3. Modificările componentelor schimbului de CO₂ pentru frunzele a cincea, a șaptea și frunza flag a plantelor de grâu.

Analiza comparativă a expresiei componentelor schimbului de CO₂ (fotosinteza aparentă, fotorespirația aparentă, respirația) la plantele crescute din semințe tratate cu ABA în condiții ecologice de câmp deschis evidențiază practic aceleași particularități ca și în experiențele de laborator (condiții modelate): unele concentrații majorează nivelul de fotosinteză aparentă, de fotorespirație

aparentă și de respirație, altele micșorează nivelul acestor indici. În acest aspect frecvența acestor schimbări este mai accentuată pentru frunza flag.

3.2. Evaluarea schimbului de CO₂ (fotosinteza aparentă, fotorespirația aparentă, respirația) a spicului și structurilor anatomice a componentelor fotosintetice active ale spicului (gluma, arista) la plantele de grâu *Triticum aestivum* L. (soiurile Kuialnic și Meleag) crescute din semințe tratate cu ABA

3.2.1 Modificările componentelor schimbului de CO₂ și structurale a spicului plantelor de grâu.

Din caracterul modificărilor a trei indici a schimbului de CO₂ pentru spic a două soiuri de grâu (Kuialnic și Meleag) constatăm că diferite concentrații de ABA conduc spre o reacție specifică pentru fiecare soi în parte. Pentru fotosinteza aparentă se depistează o tendință spre inhibare acestui proces sau menținerea lui la nivelul martorului la ambele soiuri. Fotosinteza adevărată păstrează această tendință numai pentru soiul Kuialnic, pe când pentru soiul Meleag se observă o tendință către majorarea nivelului acestui proces, atingând nivelul cel mai majorat pentru concentrația de ABA 7,5 μM. Această concentrație majorează fotosinteza adevărată și a spicului soiului Kuialnic. Diferită reacție o manifestă soiurile studiate și prin indicii de respirație (fotorespirația nu se înregistrează): pentru soiul Kuialnic este caracteristic reducerea nivelului de respirație pentru concentrațiile de ABA de 1,25; 2,5; 5,0 μM, iar pentru soiul Meleag dimpotrivă – ABA a indus majorarea nivelului respirației pentru toate concentrațiile.

În așa mod se evidențiază, că reacția spicului la tratarea semințelor cu diferite concentrații de ABA este mai specifică față de frunză și în primul rând depinde, probabil de genotip, ceea ce la frunze nu este atât de evident.

În ce privește structura anatomică a componentelor fotosintetice active a spicului (gluma, arista) în cercetările anului 2019 s-a pus accentul pe studiul formării elementelor sindromului C₄ la faza mai timpurie a dezvoltării spicului – faza de înspicare (etapa VIII a organogenezei spicului). Spicul în această fază se dezvoltă în condiții de iluminare redusă întrucât este amplasat în teaca frunzei flag.

Mentionăm, că în această fază și în aceste condiții, atât în glumă cât și în ariste, are loc diferențierea celulelor meristematice analogic zonei de divizare - începutul elongării celulelor frunzelor de porumb: se formează vasele conducătoare, iar în jurul lor se aranjează celulele rotunde de aceeași mărime analogic celulelor mezofilului. În așa mod, probabil, are loc formarea structurilor proto-Kranz, având în vedere, că fotorespirația aparentă absentează. Impactul acidului abscizic la această fază nu se

evidențiază, adică schimbări specifice induse de ABA în frunzele plantelor la glumă și ariste nu se evidențiază.

3.2.2 Impactul tratării semințelor de grâu cu ABA asupra productivității semincierei a plantelor crescute în condiții ecologice de câmp deschis.

Analiza elementelor structurii productivității semincierei a plantelor crescute din semințe tratate cu ABA demonstrează în întregime o tendință spre majorare: a numărului de spice recoltate până la 14% pentru soiul Meleag; a greutateii semințelor din spicele recoltate până la 15% pentru soiul Meleag; a lungimei spicului până la 8% pentru soiul Kuialnic; a numărului semințelor dintr-un spic până la 8 % pentru soiul Kuialnic; iar pentru soiul Meleag rămâne la nivelul matorului.

Greutatea semințelor dintr-un spic pentru soiul Kuialnic rămâne la nivelul matorului, iar pentru soiul Meleag se majorează până la 7,6%.

În așa mod impactul tratării semințelor de grâu asupra productivității semincierei poartă, probabil, un caracter genotipic și în întregime tinde, spre majorarea productivității semincierei a soiurilor de grâu studiate.

4. REZUMAT

Scopul cercetărilor pentru anul 2019 a fost evaluarea comparativă a impactului tratării semințelor cu acid abscizic (ABA) asupra elementelor structurale și funcționale a sindromului C₄ la organele fotosintetic active (frunze și spic) și productivității seminciare a plantelor de grâu (C₃ plante), crescute în condiții modelate de laborator obținute anterior și în condiții ecologice de câmp deschis. Ca obiect de studiu au servit frunzele și spicul plantelor C₃ (Tr. aestivum L. - soiurile Kuialnic și Meleag).

Analiza comparativă a structurii anatomice și expresiei componentelor schimbului de CO₂ a frunzelor a cincea, a șaptea, frunzei flag a plantelor, crescute în câmp deschis cu rezultatele obținute anterior în condiții modelate de laborator demonstrează că ele sunt analogice: se evidențiază aceleași modificări (particularități) structurale și funcționale induse de ABA. Caracterul modificărilor schimbului de CO₂ pentru spicul integral demonstrează că diferite concentrații de ABA conduc spre o reacție specifică pentru fiecare soi în parte: pentru fotosinteza aparentă se depistează o tendință spre inhibare, sau menținerea la nivelul martorului la ambele soiuri; fotosinteza adevărată păstrează această tendință numai pentru soiul Kuialnic, pe când soiul Meleag tinde spre majorarea nivelului acestui proces. La ambele soiuri fotorepirația aparentă nu se înregistrează atât la martor, cât se la plantele crescute din semințe tratate cu ABA. O diferită reacție se evidențiază pentru respirație: pentru soiul Kuialnic toate concentrațiile conduc spre inhibarea respirației, pentru soiul Meleag reacția este inversă - nivelul respirației se majorează.

În studierea structurii anatomice a componentelor fotosintetic active a spicului (gluma, arista) s-a pus accentul pe studiul formării elementelor sindromului C₄ la faza mai timpurie a dezvoltării spicului (etapa VIII a organogenezei spicului). Menționăm, ca în această fază atât în glumă cât și în ariste, are loc diferențierea celulelor meristematice analogic zonei de divizare - începutul elongării celulelor frunzelor de porumb: probabil, are loc formarea structurilor proto-Kranz, având în vedere, că fotorepirația aparentă absentează. Impactul acidului abscizic la această fază nu se evidențiază, adică schimbări specifice induse de ABA în frunzele plantelor la glumă și ariste nu se evidențiază.

În așa mod, reacția spicului la tratarea semințelor cu diferite concentrații de ABA este mai specifică față de frunză și în primul rând depinde, probabil de genotip, ceea ce la frunze nu este atât de evident, pe când pentru productivitatea seminciară acest fapt este concludent. Pe fondalul acestei particularități tratarea semințelor cu ABA de diferite concentrații conduce, în întregime, către majorarea productivității seminciare a soiurilor de grâu studiate.

5. CONCLUZII

1. Analiza comparativă a structurii anatomice și expresiei componentelor schimbului de CO₂ a frunzelor a cincea, a șaptea, frunzei flag cu rezultatele obținute anterior în condiții modelate de laborator demonstrează că ele sunt analogice cu cele obținute în condiții ecologice de câmp deschis. Se evidențiază aceleași modificări (particularități) structurale și functionale induse de ABA: se micșorează distanța între vasele conducătoare; se micșorează numărul celulelor de mezofil, pe când numărul de celule din jurul vasului conducător rămân la nivelul martorului; se majorează volumul celulelor din jurul vasului conducător, pe când a mezofilului se micșorează; celulele din jurul vasului conducător se „încarcă” cu cloroplaste; unele concentrații majorează nivelul de fotosinteză aparentă, de fotorespirație aparentă și de respirație, altele micșorează nivelul acestor indici.
2. Caracterul modificărilor schimbului de CO₂ pentru spicul integral demonstrează că diferite concentrații de ABA conduc spre o reacție specifică pentru fiecare soi în parte: pentru fotosinteză aparentă se depistează o tendință spre inhibare, sau menținerea la nivelul martorului la ambele soiuri; fotosinteză adevărată păstrează această tendință numai pentru soiul Kuialnic, pe când soiul Meleag tinde spre majorarea nivelului acestui proces. La ambele soiuri fotorespirația aparentă nu se înregistrează atât la martor cât și la plantele crescute din semințe tratate cu ABA. O diferită reacție se evidențiază pentru respirație: pentru soiul Kuialnic toate concentrațiile conduc spre inhibarea respirației, pentru soiul Meleag reacția este inversă - nivelul respirației se majorează.
3. Reacția spicului la tratarea semințelor cu diferite concentrații de ABA este mai specifică față de frunză și în primul rând depinde probabil de genotip, ceea ce la frunze nu este atât de evident, pe când pentru productivitatea semincieră acest fapt este concludent. Pe fondalul acestei particularități tratarea semințelor cu ABA de diferite concentrații conduce, în întregime, spre majorarea productivității semincierei a soiurilor de grâu studiate.

Fișa proiectului de cercetări fundamentale

I. Denumirea direcției strategice, codul și denumirea proiectului

16.05 Biotehnologi.15.817.05.076. Formarea sindromului C₄ la C₄ și C₃ plante: analiza structurală, funcțională și moleculară

II. Obiectivele proiectului

Analiza particularităților formării elementelor sindromului C₄ la plantele de grâu, crescute din semințe tratate cu acidul abscizic (ABA) în condiții de câmp deschis în comparație cu cele obținute în experimentele de laborator.

III. Termenul executării

2015-2019

IV. Volumul total planificat al finanțării

2343,9 mii lei

V. Volumul finanțării pe perioada evaluată (mii lei)

Finanțarea planificată – 767,0 mii lei

Finanțarea executată – 767,0 mii lei

VI. Subdiviziunile organizației executoare (laborator, secție, sector etc.)

Laboratorul „Bioenergetica”

VII. Executorii

Nume, prenume, funcția în cadrul proiectului	
Balaur Nicolae	- conducător de proiect
Voronțov Veaceslav	- cercetător științific coordonator
Merenciuc Lilia	- cercetător științific
Roșca Fiodor	- fiziolog, cat.I

VIII. Sumarul activităților proiectului realizate în anul 2019

Activități planificate	Activități realizate și rezultate noi obținute în cadrul proiectului (150 de cuvinte)
„Analiza structurală și funcțională a frunzelor pe parcursul ontogenezei plantelor de grâu (<i>Tr. aestivum</i> L.), crescute în condiții de câmp din semințe tratate cu acidul abscizic”.	1. Creșterea plantelor de grâu din semințe tratate cu diferite concentrații de ABA în condiții ecologice de câmp deschis a evidențiat aceleași particularități de formare a elementelor sindromului C₄: ele sunt caracteristice structurilor proto – Kranz a etapei de trecere de la C₃ tip de fotosinteză la C₄. 2. Caracterul modificărilor schimbului de CO₂ pentru spicul integral demonstrează că diferite concentrații de ABA conduc spre o reacție specifică pentru fiecare soi în parte: pentru fotosinteza aparentă se depistează o tendință spre inhibare, sau menținerea la nivelul martorului la ambele soiuri, la care fotorrespirația aparentă nu se înregistrează. 3. Reacția spicului la tratarea semințelor cu diferite concentrații de ABA este mai specifică față de frunză și în primul rând depinde, probabil, de genotip. Pe fondalul acestei particularități tratarea semințelor cu ABA de diferite concentrații conduce, în întregime, spre majorarea productivității semincierei a soiurilor de grâu studiate.

- IX. Lista lucrărilor științifice (monografii, articole, obiecte de proprietate intelectuală) cu referință la proiectul dat pe anul 2019 (conform **forme** 4 din structura raportului)

MERENIUC L., BALAUR N., VORONȚOV V. Particularitățile modificărilor structurale ale frunzei plantelor de grâu (C_3 plante) sub acțiunea acidului abscizic. Biotehnologii avansate – realizări și perspective. Simpozionul științific internațional (Ediția a V - a), 21-22 octombrie 2019, Chișinău, Republici Moldova, P.14, ISBN 978 – 9975 – 56-695-7

- X. Relevanța rezultatelor științifice teoretice / aplicative obținute (până la 200 de cuvinte), 2019

Rezultatele obținute sunt noi (în Republica Moldova astfel de cercetări fundamentale nu se efectuează) și au tangență cu cercetările internaționale privind reconstrucția C_3 plantelor în plante cu C_4 tip de fotosinteză și confirmă rezultatele anterioare pentru plantele crescute în condiții modelate de laborator. Înducerea structurilor proto- Kranț de către acidul abscizic și în condiții de câmp marchează în întregime posibilitatea inducerii etapei intermediare de trecere a plantelor de la C_3 la C_4 tip de fotosinteză. Plantele cu astfel de tip de fotosinteză (intermediar) asigură majorarea productivității cu 15 -30 %.

- XI. Rezumatul celor mai semnificative rezultate științifice teoretice / aplicative obținute în cadrul proiectului în anul 2019 (până la 300 cuvinte)

Analiza comparativă a particularităților modificării structurii anatomice și expresiei componentelor schimbului de CO_2 a frunzelor a cincea, a șaptea, frunzei frag a plantelor, crescute în câmp deschis cu rezultatele obținute anterior în condiții modelate de laborator, demonstrează că ele sunt analogice. Caracterul modificărilor schimbului de CO_2 pentru spicul integral demonstrează că diferite concentrații de ABA conduc spre o reacție specifică pentru fiecare soi în parte: pentru fotosinteza aparentă se depistează o tendință spre inhibare, sau menținerea la nivelul martorului la ambele soiuri; fotosinteza adevărată păstrează această tendință numai pentru soiul Kuialnic, pe când soiul Meleag tinde spre majorarea nivelului acestui proces. La ambele soiuri fotorespirația aparentă nu se înregistrează. Pentru soiul Kuialnic toate concentrațiile conduc spre inhibarea respirației, pentru soiul Meleag reacția este inversă - nivelul respirației se majorează. În faza a mai timpurie a dezvoltării spicului (etapa a VIII a organogenezei spicului), atât în glumă cât și în ariste, are loc diferențierea celulelor meristematice analogic zonei de divizare - începutul elongării celulelor frunzelor de porumb, având loc formarea structurilor proto – Kranț. La această fază nu se evidentiază schimbări specifice induse de ABA în frunze. Această reacție a spicului la tratarea semințelor cu diferite concentrații de ABA este mai specifică față de frunză și depinde, probabil, de genotip ceea ce la frunze nu este atât de evident. Pe fondalul acestei particularități tratarea semințelor cu ABA, în întregime, spre majorarea productivității semincierei a soiurilor de grâu studiate.

- XII. Beneficiarul (ministere, instituții de stat sau private, întreprinderi, etc.)

Beneficiarii potențiali acestor rezultate pot fi toate Institutele, în primul rând internaționale, inclusiv consorțiile în domeniul studierii sindromului C_4 , legat de reconstrucția C_3 plantelor – o cale spre o nouă revoluție verde, care ar asigura majorare fotosintezei și productivității plantelor de două ori.

Conducătorul proiectului

BALAUR Nicolae, dr.hab., prof.,
membru cor.al ASM