

UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ  
CLUJ-NAPOCA



ȘCOALA DOCTORALĂ DE ȘTIINȚE  
AGRICOLE INGINEREȘTI  
FACULTATEA DE HORTICULTURĂ



**Ing. SIMONA LAURA INOAN**  
(căs. BUDURU)

REZUMAT AL  
**TEZEI DE DOCTORAT**

**EVALUAREA STRESULUI LA SPECIA *ARABIDOPSIS*  
*THALIANA* EXPUSĂ LA DIFERITE CÂMPURI FIZICE**

**CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC**  
**Prof. univ.dr. HORIA RADU CRIVEANU**

**CLUJ-NAPOCA**

**-2015-**

---

**Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**

**CUPRINS**

<b>INTRODUCERE</b> .....	<b>3</b>
<b>SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII</b> .....	<b>4</b>
<b>MATERIALUL ȘI METODELE CERCETĂRII</b> .....	<b>6</b>
1.1. Materialul biologic studiat .....	6
1.2. Protocolul experimental .....	6
<b>REZULTATE ȘI DISCUȚII</b> .....	<b>8</b>
1.3. Efectele induse în urma expunerii materialului biologic acțiunii câmpului electric .....	8
1.4. Efectele induse materialului biologic în urma expunerii la acțiunea câmpului magnetic .....	9
1.5. Efectele produse de iradierea în fascicul LASER asupra semințelor de <i>Arabidopsis thaliana</i> .....	10
1.6. Efectele produse de prezența câmpului torsional asupra materialului vegetal... ..	11
1.7. Efectele radiației gamma asupra materialului vegetal în funcție de doza de iradiere.....	12
1.8. Efectele acțiunii modulatorilor bio-fito-dinamici de tip A.D. asupra semințelor de <i>Arabidopsis thaliana</i> .....	13
1.9. Compartii între efectele câmpurile fizice cercetate asupra indicatorilor de determinare ai germinației.....	14
1.10. Efectele produse de câmpurile fizice asupra fragmentelor de ADN determinate prin spectroscopie FT-IR.....	16
<b>CONCLUZII</b> .....	<b>22</b>
<b>BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ</b> .....	<b>25</b>

## **Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**

### **INTRODUCERE**

Viața este în permanență influențată și afectată de prezența și acțiunea câmpurilor fizice. Fie ele magnetice, electrice, electromagnetice, de torsiune sau subtile, ori sub formă de radiații ionizate, câmpurile fizice și prezența lor constantă, sau doar ocazională, contribuie la menținerea vieții pe Pământ.

Cel mai mare și puternic câmp fizic este câmpul magnetic al Pământului, care joacă un rol protector pentru formele de viață de pe planeta noastră față de radiațiile din spațiul cosmic, totodată viețuitoarele, inclusiv oamenii fiind adaptați la inducția acestui câmp electromagnetic.

Lucrarea intitulată “**Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**”, își propune investigarea efectelor fiziologice și genetice produse de șase câmpuri fizice, la diferite valori și intervale de expunere, asupra speciei *Arabidopsis thaliana*.

Cercetările și experimentele s-au desfășurat pe durata celor trei ani de studii doctorale, fiind testați diverși parametri ai câmpurilor fizice, și stabilindu-se astfel în urma testărilor, valorile pentru care s-au continuat cercetările, prezente în această lucrare.

Teza este structurată pe șapte capitole, după cum urmează:

Primul capitol, “**Studiul actual al cercetărilor privind efectul câmpurilor fizice asupra plantelor**” prezintă un tablou de ansamblu privind observațiile înregistrate în diversele studii realizate, asupra răspunsurilor induse de prezența câmpurilor fizice în imediata apropiere a materialelor vegetale cercetate.

Capitolul al doilea, intitulat “**Fizica, biofizica și câmpurile fizice**” tratează noțiuni teoretice legate de aceste ramuri ale științei, cu precădere fenomenele fizice implicate în desfășurarea sistemelor biologice. Sunt prezentate câmpurile fizice studiate, însoțite de o scurtă descriere și câteva din cele mai importante proprietăți ale acestora.

Capitolul trei, “**Modificări induse și răspunsul plantelor la diferiți factori de stres**”, descrie răspunsurile primite de la plantele supuse diferiților factori de stres, precum deficitul de apă, metalele grele ori radiațiile ultraviolete.

## **Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**

“**Obiectivele cercetării**” sunt prezentate în capitolul patru și sunt stabilite punctual în conformitate cu tema principală a tezei.

Capitolul cinci, “**Material și metodă**” oferă informații cu privire la materialul biologic studiat, *Arabidopsis thaliana*, care, deși ca plantă nu reprezintă o valoare economică, prin faptul că este prima plantă cu flori care are genomul secvențiat și cu o perioadă de vegetație scurtă, prezintă o importanță deosebită pentru biologia vegetală.

Sunt prezentate în cadru acestui capitol protocoalele experimentale utilizate, modul de lucru, aparaturile folosite și dozele aplicate asupra materialului biologic.

Tot aici, sunt detaliate metodele de determinare a germinației semințelor supuse acțiunii câmpurilor fizice, metodele matematice și statistice folosite, protocolul de extracție al ADN-ului din frunzele plantelor testate, evaluarea purității acestuia precum și analiza prin spectroscopie în infraroșu cu transformantă Fourier (FT-IR).

“**Rezultate și discuții**” sunt incluse în capitolul șase al lucrării, și sunt organizate pe subcapitole, câte unul pentru fiecare câmp fizic studiat.

“**Concluziile**” reprezintă ultima parte a tezei și sintetizează ideile și concluziile desprinse în urma cercetărilor experimentale realizate.

### **SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII**

Lucrarea de față își propune să evalueze și să investigheze efectele pe care câmpurile fizice le produc asupra semințelor de *Arabidopsis thaliana*, și să privească în ansamblul complexității mulțimii de câmpuri fizice, răspunsurile observate la nivelul de materialul vegetal investigat.

Pentru că orice condiții de mediu, altele decât cele optime, și orice factor exterior care acționează asupra plantei, reprezintă factori de stres, manifestările observate asupra materialului vegetal evaluat sunt considerate reacții ale acestuia la stres.

Stresul abiotic poate avea atât efecte negative cât și pozitive. Chiar dacă, fiind vorba de stres, efectele care par evidente sunt cele negative, de inhibare și involuție, totuși stresul exterior este de multe ori stimulatив pentru plante, având efecte pozitive asupra dezvoltării acestora.

## **Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**

Realizarea obiectivelor propuse a avut ca fază preliminară alegerea intensităților câmpurilor fizice care să inducă răspunsuri la nivelul materialului vegetal testat, altele decât cele observate în cazul materialului vegetal neexpus acțiunii câmpurilor fizice.

Obiectivele propriu-zise urmărite:

- Evaluarea răspunsului speciei *Arabidopsis thaliana* expusă acțiunii câmpului electric prin prisma indicilor de caracterizare a germinației;
- Determinarea influenței manifestate de câmpul magnetic omogen asupra germinației semințelor de *Arabidopsis thaliana*;
- Investigarea efectelor produse asupra procesului germinativ de acțiunea fasciculului laser asupra semințelor;
- Evaluarea indicilor de caracterizare ai germinației pentru semințele supuse acțiunii câmpului torsional de stânga;
- Determinarea efectelor produse de prezența câmpului torsional de dreapta asupra materialului vegetal;
- Investigarea parametrilor germinației pentru semințele bombardate cu radiații gamma de diverse intensități;
- Determinarea influenței modulatorilor bio-fito-dinamici de tip Ancu Dincă asupra germinației înregistrate la semințele de *Arabidopsis thaliana*;
- Evaluarea comparativă a răspunsurilor induse de acțiunea câmpurilor fizice asupra indicilor de germinație;
- Determinarea efectelor produse la nivel molecular de acțiunea câmpurilor magnetic, electric și a radiațiilor gamma asupra fragmentelor de ADN prin metoda spectroscopiei în infraroșu cu transformantă Fourier (FT-IR).

## Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice

### MATERIALUL ȘI METODELE CERCETĂRII

#### 1.1. Materialul biologic studiat

##### 1.1.1. *Arabidopsis thaliana* – organismul model în cercetare

*Arabidopsis thaliana*, cunoscută în comunitatea științifică simplu ca *Arabidopsis*, este o mică plantă anuală, care aparține familiei Brassicaceae. Specia este auto-compatibilă și auto-fertilizatoare. *Arabidopsis thaliana* poate fi găsită într-o gamă largă de habitate, cum ar fi Peninsula Iberică, inclusiv pe terenurile agricole, pe margini de drumuri și între căile ferate, în marginea pădurilor de foioase, în pădurile din Marea Mediterană și în lăstărișuri.

*Arabidopsis* este un organism model foarte des întâlnit în biologia vegetală și genetică. *Arabidopsis thaliana* a fost prima plantă care a avut genomul secvențiat, și este o unealtă foarte des utilizată pentru înțelegerea biologiei moleculare a caracterelor și trăsăturilor plantelor, inclusiv a dezvoltării florilor și detectarea luminii.

Dimensiunea mică a genomului său face specia *Arabidopsis thaliana* utilă pentru cartografierea genetică și secvențiere - cu aproximativ 157 de perechi de megabaze și cinci cromozomi, *Arabidopsis* are unul dintre cele mai mici genomuri din rândul plantelor.

#### 1.2. Protocolul experimental

Cercetările care fac obiectul prezentei teze de doctorat au fost realizate cu ajutorul semințelor speciei *Arabidopsis thaliana* linia Col-0, linie sălbatică, provenite din laboratoarele Institutului pentru Biologia Plantelor din Szeged, Ungaria. În realizarea tuturor experimentelor au fost folosite semințe având aceeași sursă de proveniență și aparținând aceluiași lot.

Întreg protocolul experimental se regăsește în Figura 1, unde sunt sintetizate câmpurile fizice în care au fost expuse semințele, precum și metodologia de lucru folosită.

**Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**

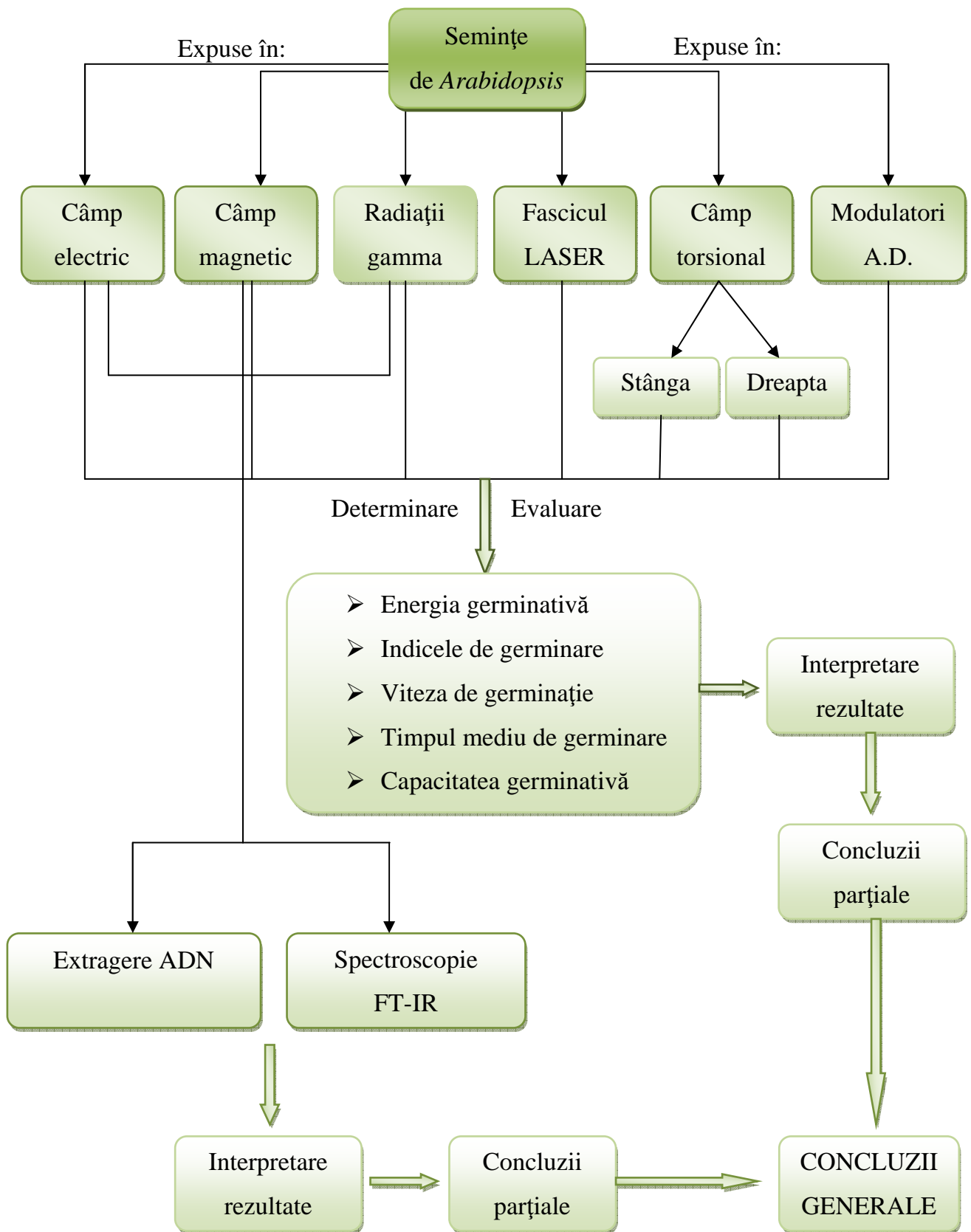


Fig. 1. Schema experimentală

---

**Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**

**REZULTATE ȘI DISCUȚII**

1.3. Efectele induse în urma expunerii materialului biologic acțiunii câmpului electric

Răspunsul semințelor speciei *Arabidopsis thaliana* expuse la factorul de stres câmp electric sunt prezentate din punctul de vedere al indicilor de caracterizare ai germinației: energia germinativă, indicele de germinare, viteza de germinare, timpul mediu de germinare și capacitatea de germinație.

Energia germinativă a fost determinată după încheierea procesului germinativ, în cazul semințelor de *Arabidopsis*, după ziua a șaptea de la plasarea acestora în germinatoare. Acest indicativ a fost cel care a înregistrat cele mai importante diferențe între variantele expuse câmpului electric și varianta neexpusă.

Astfel, valoarea cea mai ridicată a fost obținută în cazul expunerii pentru 15 minute la o intensitate a câmpului electric  $E = 2,74 \text{ V/m}$ .

Durata de expunere de 15 minute a produs cele mai bune rezultate și în cazul indicelui de germinare, vitezei de germinare și a capacității germinative.

Deși factor de stres, câmpul electric la intensitatea și intervalele de expunere cercetate a avut acțiune stimulatorie în cazul semințelor de *Arabidopsis*.

În graficul de mai jos este ilustrată relația între cei cinci parametri de caracterizare a germinației semințelor expuse câmpului electric.

Analizând parametrii care descriu procesul de germinație în ansamblul său, așa cum sunt capacitatea de germinație, timpul mediu de germinare și indicele de germinare, diferențele între cele patru variante nu sunt semnificative statistic. În schimb, din punct de vedere al startului în germinație pe care îl au semințele și al dinamicii procesului la debutul acestuia, se înregistrează diferențe distinct semnificative și foarte semnificative statistic.



**Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**

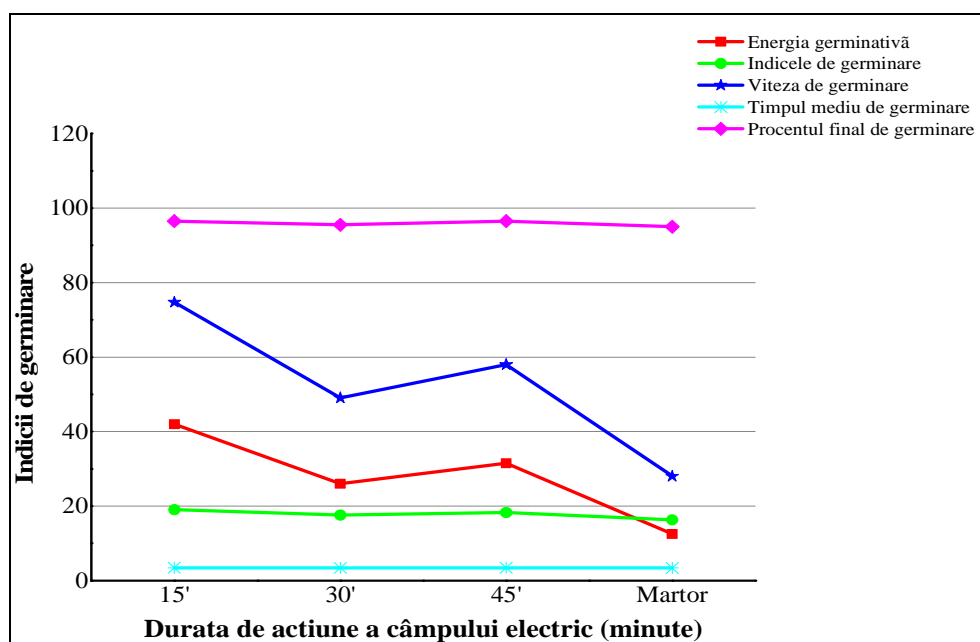


Fig. 2. Influența duratei de expunere a semințelor la acțiunea câmpului electric asupra indicilor de germinare

1.4. Efectele induse materialului biologic în urma expunerii la acțiunea câmpului magnetic

Influența acțiunii câmpului magnetic omogen cu inducția magnetică de 2,2 Gauss, a fost evaluată prin prisma celor cinci indici de caracterizare ai procesului de germinație.

Pentru durata de expunere de 20 minute indicele energie germinativă are procentul cel mai ridicat, fiind cu 30% mai mare decât al probei martor. Odată cu creșterea intervalului de timp pentru care au fost păstrate semințele în câmpul magnetic generat de bobinele Helmholtz, valoarea energiei germinative scade.

Conform datelor obținute, pentru valoarea câmpului de 2,2 Gauss, un interval de expunere mai mare nu înseamnă o energie germinativă mai bună. Dimpotrivă, pentru varianta cea mai scurtă de timp analizată s-a obținut cea mai ridicată valoare a energiei de germinație.

Evoluțiile indicelui, vitezei și capacității de germinare au fost vizibil descendente pe măsura creșterii duratei de expunere. Valoarea cea mai ridicată a acestor parametri s-a

---

## **Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**

înregistrat la varianta de expunere a semințelor pentru 20 minute, în timp ce minimum a fost înregistrat la varianta neexpusă câmpului magnetic.

Comparațiile făcute, raportate la valorile germinației înregistrate pentru varianta martor, reflectă diferențe susținute statistic pentru toate cele trei variante de semințe testate. Semințele menținute pentru 20 minute în câmp magnetic de 2,2 Gauss au obținut valori ale energiei germinative cu 15% mai mari decât ale variantei martor, diferența fiind una foarte semnificativă statistic. Pentru varianta de expunere de 40 minute, diferența este una distinct semnificativă, în timp ce ultima variantă testată, de 50 minute, înregistrează o diferență semnificativă față de valorile obținute pentru varianta martor.

### 1.5. Efectele produse de iradierea în fascicul LASER asupra semințelor de *Arabidopsis thaliana*

Pentru cele cinci variante de semințe iradiate în fascicul LASER, în urma determinării indicilor reprezentanți ai procesului de germinație, după interpretarea datelor s-au obținut următoarele rezultate:

Energia germinativă, indicele de germinare, viteza de germinare și capacitatea germinativă a semințelor iradiate a înregistrat valori de cel puțin două ori mai mari decât în cazul semințelor neiradiate.

Influența fasciculului laser asupra procesului germinativ a fost direct proporțională cu durata de timp în care fasciculul a acționat asupra semințelor.

Influența fasciculului laser asupra semințelor a fost una stimulatorie în ceea ce privește debutul procesului de germinație, urmând ca pe finalul acesteia, în ultima de zi de germinație varianta martor să aibă un procent mai mare de semințe germinate decât două variante tratate.

Diferența poate fi datorată neviabilității semințelor rămase negerminate.

Pentru iradierea semințelor în laser s-au obținut diferențe distinct semnificative statistic pentru expunerea în fascicul timp de 10 minute, și diferențe semnificative statistic pentru cea de 15 minute, comparativ cu varianta martor; variantele de 1 și

---

## **Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**

respectiv 5 minute nu au avut un debut în germinație diferit față de semințele etalon, care să poată fi susținut statistic.

### 1.6. Efectele produse de prezența câmpului torsional asupra materialului vegetal

Acțiunea câmpului torsional asupra semințelor de *Arabidopsis thaliana* a fost evaluată prin prisma efectelor produse, pe de o parte, de câmpul torsional de stânga, iar pe de altă parte de câmpul torsional de dreapta. Pentru ambele variante de câmp au fost testate semințe în două stări diferite, unele uscate iar altele umectate în prealabil.

Prezentarea efectelor induse de câmpul torsional asupra parametrilor de caracterizare a germinației a fost făcută în paralel pentru variantele de semințe uscate și umede.

#### A. Câmpul torsional de stânga

Indicii de germinație au o evoluție ascendentă dinspre varianta martor înspre varianta cu semințele păstrate pentru 90 minute sub acțiunea câmpului de torsiune. Cea mai scăzută energie germinativă a fost semnalată la materialul vegetal netratat.

Dinamica se schimbă de la un interval de acțiune la altul, la 60 minute semințele umede au valoarea mai ridicată decât cele uscate, în timp ce pentru variante de 90 minute ierarhia se schimba din nou, semințele uscate având cea mai ridicată valoare a indicilor.

#### B. Câmpul torsional de dreapta

Pentru că în cazul câmpului de torsiune, mișcării de stânga îi corespunde o mișcare de dreapta, s-a determinat influența acesteia din urmă asupra germinației semințelor de *Arabidopsis*.

Dacă în cazul câmpului torsional de stânga valorile maxime s-au înregistrat pentru varianta de 90 minute, în cazul câmpului torsional de dreapta, maximele au fost atinse de variantele de semințe uscate, la 30 minute expunere.

Graficul energiei germinative are o traiectorie fluctuantă, crește pentru varianta de 30 minute, scade la durata de 60 minute și continuă să scadă la intervalul de 90 minute, relația interval expunere – valoare indici de germinare fiind una de invers proporționalitate.

---

## **Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**

### 1.7. Efectele radiației gamma asupra materialului vegetal în funcție de doza de iradiere

Relația dintre doza de iradiere și răspunsul materialului biologic studiat, este una frecvent întâlnită în literatura de specialitate privind efectele radiobiologiei asupra diferitelor specii vegetale. În funcție de intensitatea radiației aplicate, specia studiată, stadiul fiziologic de dezvoltare al materialului biologic și tipul de iradiere utilizată, efectele produse acoperă o paletă largă de răspunsuri ale plantelor.

S-au evaluat reacțiile materialului vegetal ca răspuns la iradierea gamma în funcție de dozele aplicate.

#### A. Doze joase de până la 4.0 Gy

Determinarea **energiei germinative** în cazul semințelor de *Arabidopsis* bombardate cu radiații gamma pe baza de cobalt, a condus la inhibiția energiei germinative pentru variantele de semințe iradiate raportate la varianta martor, excepție făcând varianta expusă la o intensitate a dozei de 1,5 Gy.

#### B. Doze ridicate de iradiere de până la 65 Grey

Bombardarea semințelor de *Arabidopsis thaliana* cu radiații gamma pe bază de ioni de cobalt a avut ca efect valori superioare ale semințele neiradiate cuprinse în proba martor, comparativ cu celelalte probe.

Figura 3 cumulează atât valorile sub 4,0Gy, cât și cele între 5 și 65Gy, și reflectă evoluția energiei germinative a probelor de semințe testate, și faptul că odată cu creșterea dozei de radiații ionizate pe bază de cobalt, energia germinativă este inhibată, traiectoria graficului fiind una descrescătoare, excepție de la dinamica descrescătoare făcând probele expuse la o intensitate a dozei de 1,5Gy și la cea de 10Gy.

**Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**

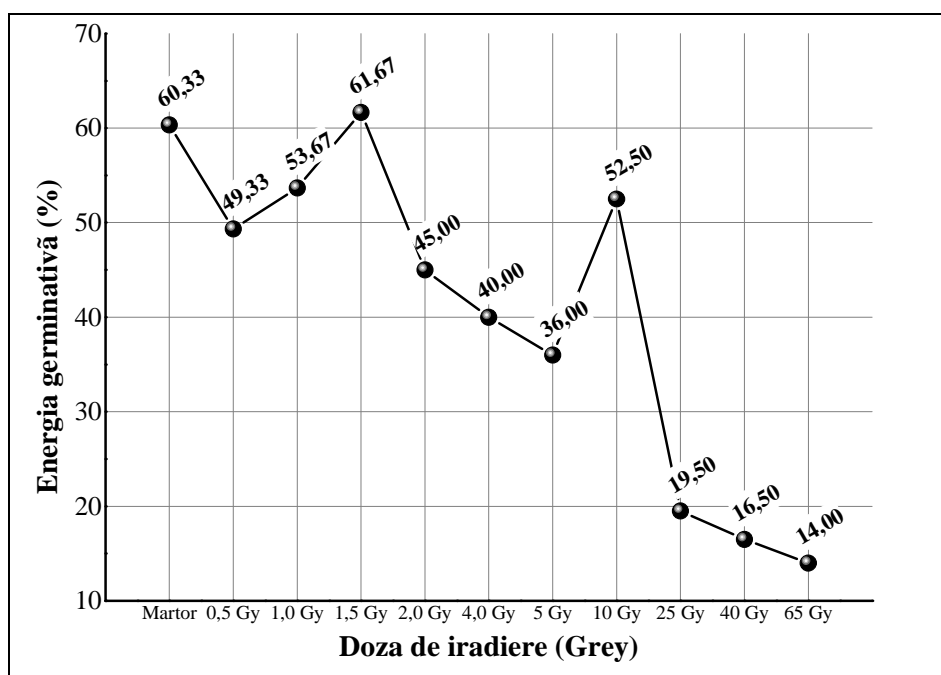


Fig. 3. Comparatie între iradierea gamma de joasă intensitate și intensitate ridicată asupra energiei germinative a semințelor testate

1.8. Efectele acțiunii modulatorilor bio-fito-dinamici de tip A.D. asupra semințelor de *Arabidopsis thaliana*

Modulatorii bio-fito-dinamici de tip Ancu Dincă, au fost plasați în imediata apropiere a semințelor de *Arabidopsis thaliana* în vederea determinării efectelor pe care aceștia, prin acțiunea câmpului subtil, le au asupra acestora.

Diferențe foarte semnificative statistic față de proba martor, s-au obținut atât pentru dispozitivul pentru încărcare și echilibrare energetică (D.I.E.E.), în ceea ce privește debutul în germinație, cât și pentru dispozitivul de energizare al apei (D.E.A.).

Bio-fito-modulatorii de tip A.D. aplicați semințelor de *Arabidopsis thaliana* accelerează procesul de germinare, fără însă a produce diferențe, care sa poată fi susținute statistic, în ceea ce privește capacitatea germinativă a semințelor testate.

**Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**

1.9. Comparații între efectele câmpurilor fizice cercetate asupra indicatorilor de determinare ai germinației

Comparațiile între cele șase câmpuri fizice studiate s-au realizat prin prisma efectelor pe care le determină asupra semințelor de *Arabidopsis thaliana*, și vizează în principal reacțiile materialului vegetal la stres manifestate prin procesul germinativ.

Pentru a putea cuprinde efectele produse de toate câmpurile fizice, comparația a fost realizată între valorile minime și cele maxime înregistrate pentru fiecare dintre câmpurile luate în studiu.

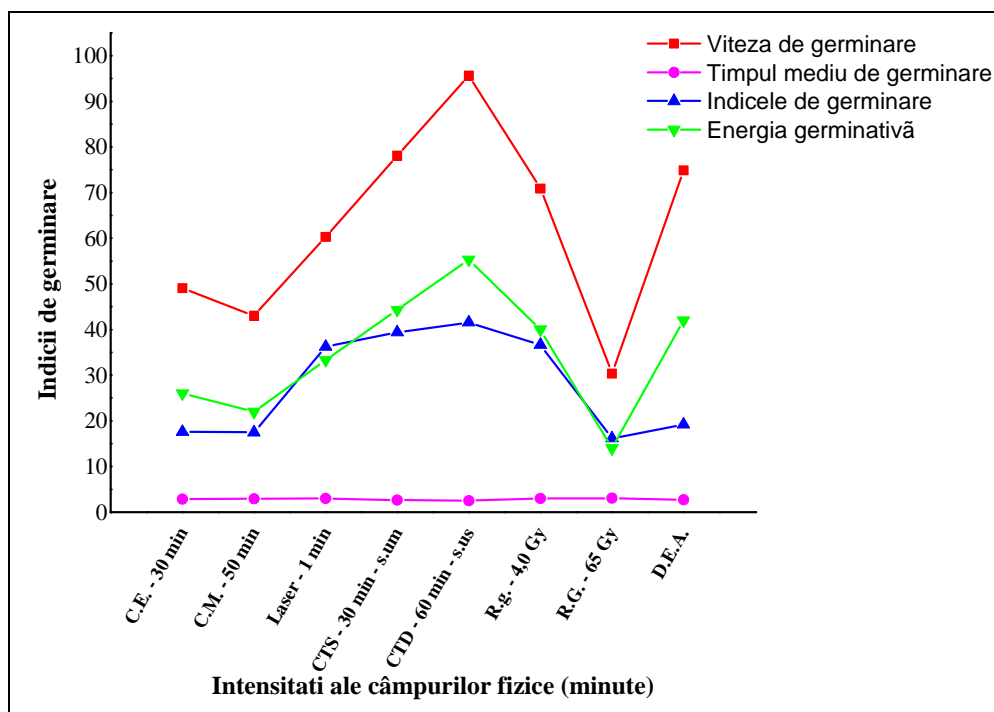


Fig. 4. Comparație între valorile minime înregistrate de indicii de germinare pentru toate câmpurile studiate

Exceptând indicele timp mediu de germinare, pentru care valorile minime obținute au fost destul de apropiate pentru toate câmpurile fizice luate în studiu, la toți ceilalți indici prezentați în figura 4 valorile minime înregistrate prezintă diferențe semnificative.

Aceleași raporturi se păstrează și în cazul energiei germinative și a indicelui de germinare între valorile obținute pentru câmpurile evaluate, amplitudinea

**Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**

grafică fiind mai redusă pentru indicii de germinare, ceea ce se înseamnă valori mai apropiate.

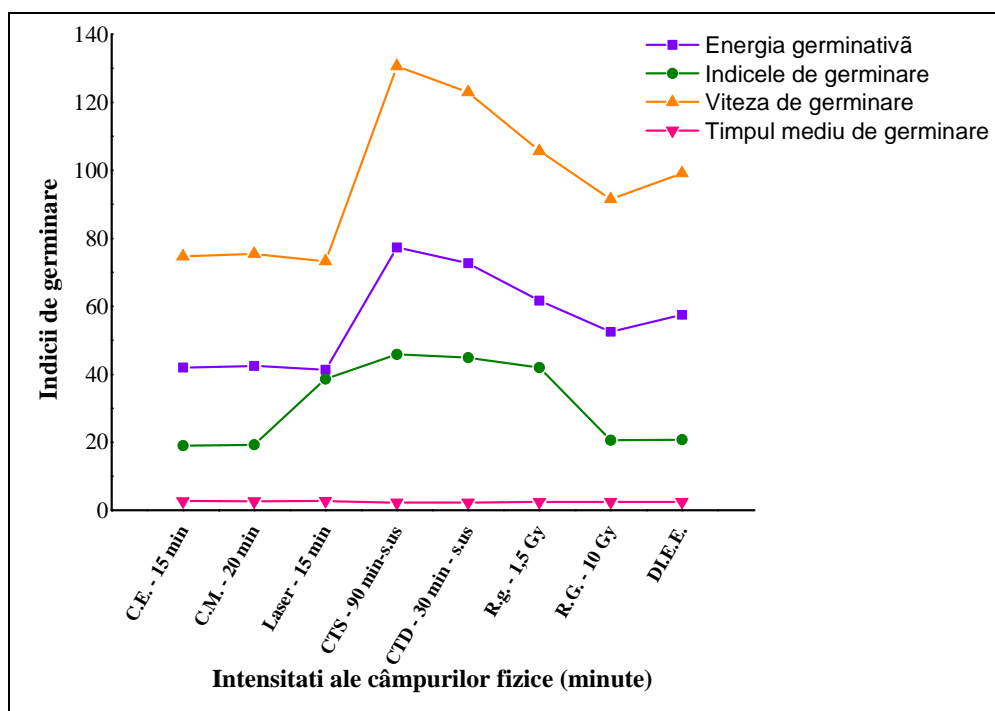
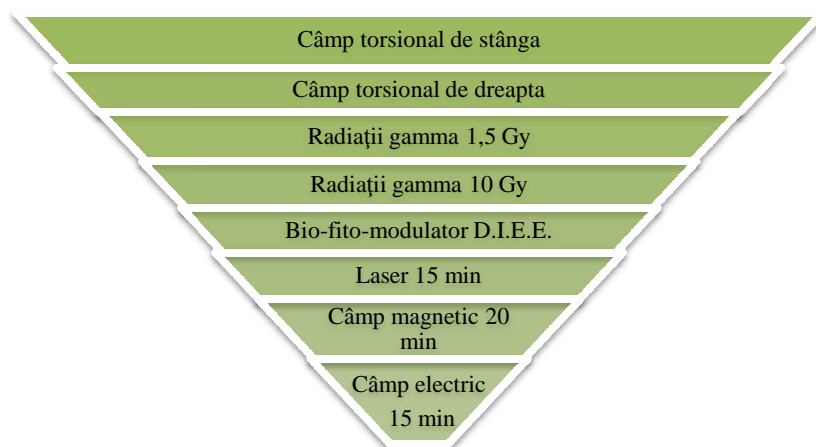


Fig. 5. Comparație între valorile maxime înregistrate de indicii de germinare pentru toate câmpurile studiate

Diferențele dintre maximele obținute pentru indicii de caracterizare ai germinației, după acțiunea câmpurilor asupra semințelor de *Arabidopsis* se regăsesc în figura 5. Cele mai bune rezultate asupra procesului germinativ le are câmpul torsional de stânga care a acționat timp de 90 minute asupra semințelor uscate.

Ierarhia câmpurilor fizice în funcție de acțiunea benefică și stimulatorie pe care o au asupra germinației semințelor de *Arabidopsis thaliana* arată astfel:



**Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**

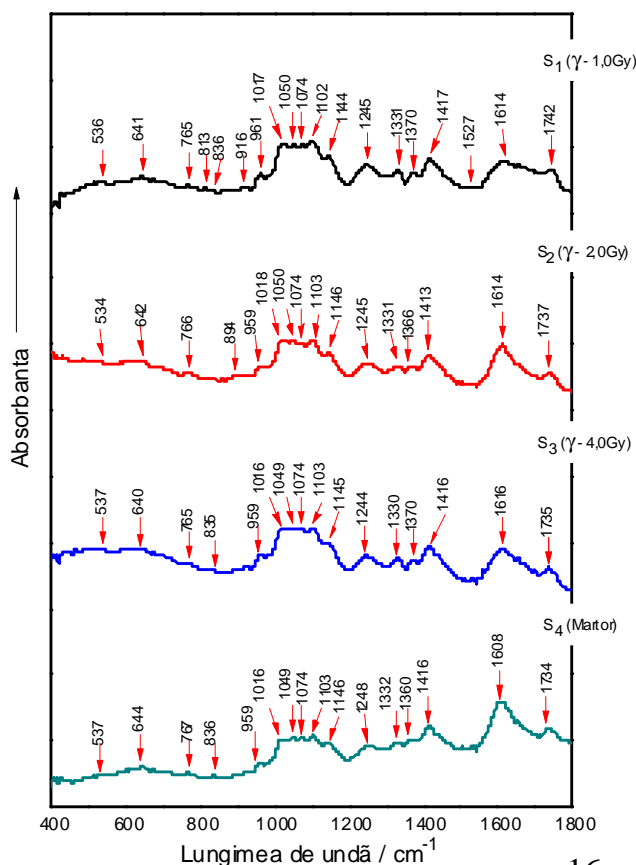
**1.10. Efectele produse de câmpurile fizice asupra fragmentelor de ADN determinate prin spectroscopie FT-IR**

Din semințele de *Arabidopsis thaliana* expuse câmpurilor electric, magnetic și radiațiilor ionizate gamma, s-au dezvoltat plante ale căror aparate foliare au constituit materialele de studiu pentru extracția ADN-ului și determinarea modificărilor survenite la nivelul acestuia, ca răspuns din partea plantei la factorii de stres reprezentați de aceste câmpuri.

În urma analizei de spectroscopie în infraroșu cu transformantă Fourier (FT-IR) s-au identificat frecvențele de vibrație caracteristice fragmentelor de ADN, acestea fiind prezentate în tabele de mai jos.

Rezultatele au fost structurate pe câmpurile fizice studiate, pentru fiecare dintre ele fiind prezentat un grafic cu spectrele de absorbție ale ADN-urilor și un tabel cu atribuirile numerelor de undă realizate. S-au localizat toate spectrele posibile absorbite, atribuirea realizându-se apelând la literatura de specialitate.

Domeniul numerelor de undă evaluat a fost cuprins între 400 - 1800  $\text{cm}^{-1}$ . Pe



benzile cuprinse în acest interval, au fost poziționați manual markeri pentru identificarea picurilor și atribuirea numerelor de undă.

Fig. 6. Spectrul de absorbantă FT-IR al ADN-ului extras din probele expuse radiației  $\gamma$

În tabelul 1 cu atribuirile făcute numerelor de undă, se disting



**Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**

două zone pentru care între cele patru probe cercetate apar diferențe care depășesc rezoluția de  $4 \text{ cm}^{-1}$  a spectroscopului folosit, și care corespund unor modificări survenite ca urmare a iradierii gamma a materialului vegetal.

Creșterea de frecvență observată în cazul dezoxiadenozinei și dezoxiguanozinei se datorează unor ruperi de structură ca urmare a acțiunii radiațiilor  $\gamma$ , care încep cu ruperea legăturilor de hidrogen.

Tabelul 1

Poziția picurilor și atribuirea numerelor de undă moleculelor ADN extrase din probele expuse radiației  $\gamma$

S1	S2	S3	S4	Atribuire *
641	642	640	644	C2'H <sub>2</sub>
765	766	765	767	Dezoxiadenozina libera, dezoxi C3'-endo O-P-O, posibil conformatia A
961	959	959	959	Dezoxiriboza
1017	1018	1016	1016	Dezoxiriboza
1050	1050	1049	1049	Dezoxiriboza (C-O "stretch")
1074	1074	1074	1074	Dezoxiriboza (C-O "stretch")
1102	1103	1103	1103	$\nu_s \text{PO}_2^-$
1144	1146	1145	1146	Dezoxiriboza, C3'-endo/anti, forma A
1245	1245	1244	1248	$\nu_a \text{PO}_2^-$ , posibil forma A
1331	1331	1330	1332	dA
1370	1366	1370	1360	dA, dG (C2'-endo/anti)
1417	1413	1416	1416	Dezoxiriboza C2'-endo/anti, forma B
1527				dC
1614	1614	1616	1608	dA, posibil C=C, C=N
1742	1737	1735	1734	dG, dT, modul C=C de tip "stretching" al bazei

\* Abrevieri: dA-dezoxiadenozina; dG-dezoxiguanozina; dC-dezoxicitidina; dT-dezoxitimidina.

(sursa Ștefan și colab., 2014)

Creșterea de frecvență observată în cazul dezoxiadenozinei și dezoxiguanozinei se datorează unor ruperi de structură ca urmare a acțiunii radiațiilor  $\gamma$ , care încep cu ruperea legăturilor de hidrogen.

Deplasarea maximului pe spectrele din figura 6, este provocată de ruperile legăturilor fizice, prin ruperea punților de hidrogen, care au ca efect creșterea frecvenței.

Radiațiile  $\gamma$  de intensități mari pot duce la ruperea legăturilor chimice din molecula ADN-ului.

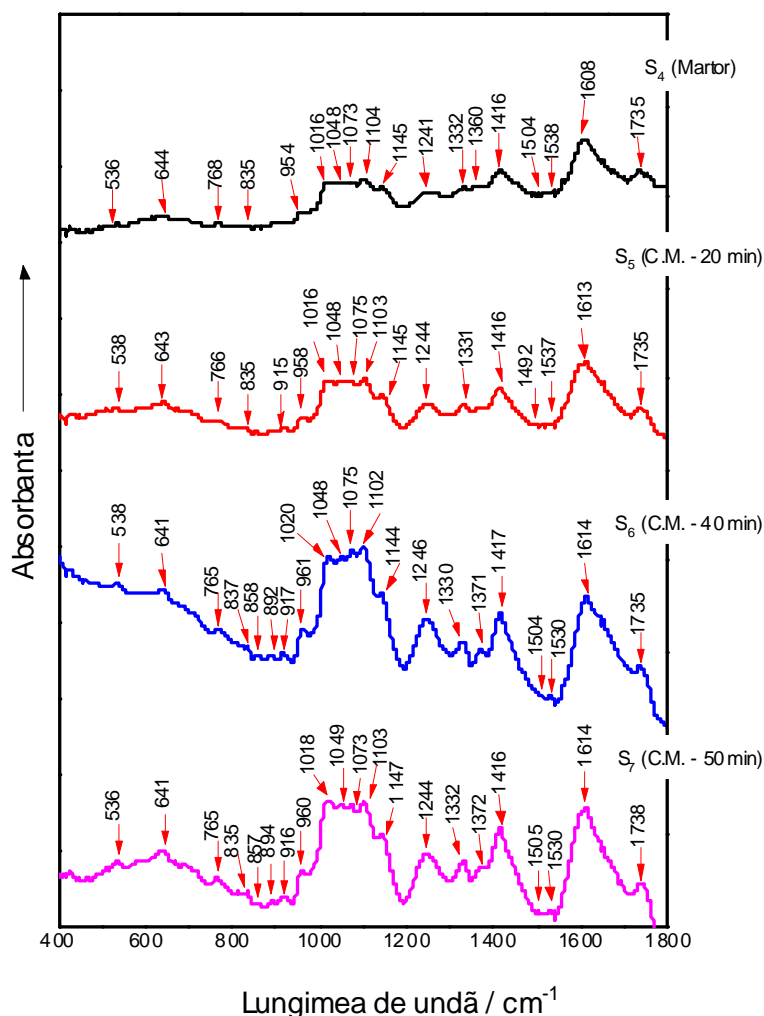
Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice

Fig. 7. Spectrul de absorbantă FT-IR al ADN-ului extras din probele expuse câmpului magnetic

Spectrele obținute pentru probele care au fost supuse acțiunii câmpului magnetic de 2,2 Gauss la duratele de expunere de 20, 40 și 50 minute sunt prezentate în figura 7. Primul domeniu al numerelor de undă în care se observă modificări ale spectrelor aferente probelor expuse câmpului magnetic, este cel cuprins între  $536\text{-}538\text{ cm}^{-1}$ , care chiar dacă nu prezintă modificări de structură, prezintă o frecvență mai amplă a picului față de cea a variantei martor. Același fenomen de creștere a amplitudinii frecvenței se întâlnește și pentru markeri  $1241\text{-}1246\text{ cm}^{-1}$ , unde pentru variantele tratate vibrația este mult amplificată, raportul semnal-zgomot fiind optimizat.

Diferențe semnificative de amplitudine se remarcă și pentru zona  $1416\text{-}1417\text{ cm}^{-1}$  devenind mult mai evidente pentru probele afectate de câmpul magnetic decât pentru martor.

**Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**

Tabelul 2.

Poziția picurilor și atribuirea numerelor de undă moleculelor ADN extrase din probele expuse câmpului magnetic

S4	S5	S6	S7	Atribuire *
644	643	641	641	C2'H <sub>2</sub>
768	766	765	765	Dezoxiadenozina libera, dezoxi C3'-endo O-P-O, posibil conformatia A
		858	857	Lant fosfogluclidic, dezoxiriboza, posibil conformatia A
		892	894	Lant fosfogluclidic, dezoxiriboza
		917	916	Dezoxiriboza cuplata cu lantul fosfogluclidic, posibil conformatia Z
954	958	961	960	Dezoxiriboza
1016	1016	1020	1018	Dezoxiriboza
1048	1048	1048	1049	Dezoxiriboza (C-O "stretch")
1073	1075	1075	1073	Dezoxiriboza (C-O "stretch")
1104	1103	1102	1103	$\nu_s\text{PO}_2^-$
1145	1145	1144	1147	Dezoxiriboza, C3'-endo/anti, forma A
1241	1244	1246	1246	$\nu_a\text{PO}_2^-$ , posibil forma A
1332	1331	1330	1332	dA
1360		1371	1372	dA, dG (C2'-endo/anti)
1416	1416	1417	1416	Dezoxiriboza C2'-endo/anti, forma B
1504	1504	1504	1505	Moduri vibrationale ale inelelor bazelor
1538	1537	1530	1530	dC
1608	1613	1614	1614	dA, posibil C=C, C=N
1735	1735	1735	1738	dG, dT, modul C=C de tip "stretching" al bazei

\* Abrevieri: dA-dezoxiadenozina; dG-dezoxiguanozina; dC-dezoxicitidina; dT-dezoxitimidina.

(sursa Ștefan și colab., 2014)

În tabelul atribuirilor de mai sus, marcate se regăsesc domeniile de undă pentru care au apărut modificări determinate de prezența câmpului magnetic. Dezoxiriboza reprezentată de markeri 954-961  $\text{cm}^{-1}$  este modificată datorită întinderii vibrației din legătura C-O, care produce diferențe de 6-7  $\text{cm}^{-1}$  între variantele expuse câmpului magnetic timp de 50, respectiv 40 minute.

Zona cuprinsă între 1360-1372  $\text{cm}^{-1}$  alocată dezoxiadenozinei și dezoxiguanozinei, se ramarcă prin deplasarea maximului cu 11-12  $\text{cm}^{-1}$  la probele expuse câmpului magnetic pentru 50, respectiv 40 minute.

În cazul dezoxicitidinei, alocată domeniului de undă cuprins între 1530-1538  $\text{cm}^{-1}$ , maximul scade pentru probele expuse 40 și 50 minute câmpului magnetic, fiind cu 8  $\text{cm}^{-1}$  mai mic decât al variantei martor.

Spectrele probelor excitate în câmp electric, precum și cel a probei martor se resesc în figura x. La prima vedere se observă diferențe evidente de amplitudine apărute

**Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**

între varianta martor și variantele expuse câmpului electric. Prima astfel de diferență este regăsită pentru zona cuprinsă între  $958\text{-}959\text{ cm}^{-1}$  alocată doxoriribozei, unde dinnou nu există modificări de frecvență ci doar de amplitudine.

Între martor și variantele testate apar modificări ale spectrului pe domeniul  $1416\text{-}1417\text{ cm}^{-1}$  corespondente formeii B a dezoxiribozei.

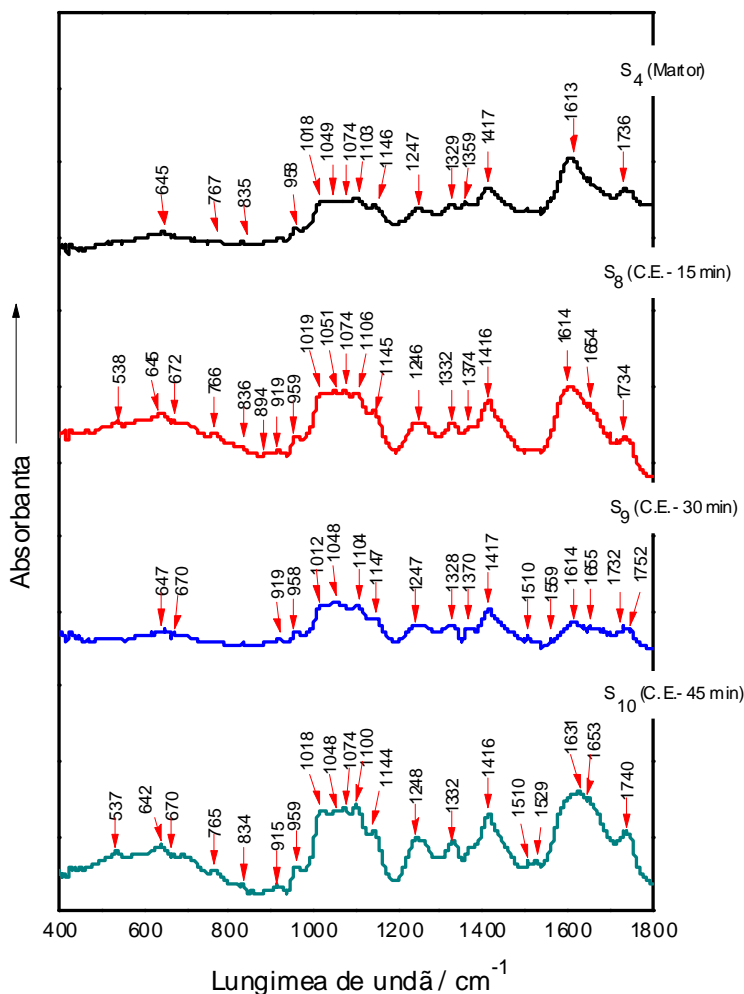


Fig. 8. Spectrul de absorbanță FT-IR al ADN-ului extras din probele expuse câmpului electric

Domeniile numerelor de undă care prezintă modificări față de varianta martor sunt evidențiate în tabelul 3.

Deplasarea de frecvență în cazul grupării  $\text{PO}_2^-$  se manifestă prin scăderea a frecvenței în probele expuse câmpului electric, de la martor înspre câmpul electric crescător ca durată, deplasarea putându-se datora redistribuirii de sarcini electrice pe gruparea  $\text{PO}_2^-$ . Deplasarea de frecvență prezentă la câmpul electric care este mai mică

**Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**

decât în cazul anterior, putând fi invocate două cauze ale acesteia. Prima cauză este reprezentată de o eroare instrumentală apărută din cauza suprapunerii sub aceeași picuri, și a doua cauză reprezentată de un efect fizic real manifestat prin redistribuția de sarcini electrice la nivelul grupărilor.

Burțile mari apărute pentru zona lungimilor de undă  $1613-1631\text{ cm}^{-1}$  se datorează punților de hidrogen. Acestea se datorează și prezenței apei moleculare în filmele de ADN, care determină și creșterea ariei.

Dezoxiadenozina din spectru probei expuse 15 minute în câmp electric, după lărgime oferă informații conform cărora aceasta ar fi un efect al grupărilor OH sau NH.

Pentru zona  $1012-1018\text{ cm}^{-1}$  frecvențele caracterizare de inelul de riboză nu este afectat de câmpul electric și modificările duratelor de expunere.

Domeniile numerelor de undă cuprinse între  $1359-1374\text{ cm}^{-1}$  prezintă o tendință de creștere a frecvenței corespunzătoare grupării dG, modificarea s-ar putea datora schimbării raportului endo-anti a celor doi enantiomeri prezenți.

Tabelul 3.

Poziția picurilor și atribuirea numerelor de undă moleculelor ADN extrase din probele expuse câmpului electric

S4	S8	S9	S10	Atribuire *
645	645	647	642	C2'H <sub>2</sub>
767	766		765	Dezoxiadenozina libera, dezoxi C3'-endo O-P-O, posibil conformatia A
	919	919	915	Dezoxiriboza cuplata cu lantul fosfoglucidic, posibil conformatia Z
958	959	958	959	Dezoxiriboza
1018	1019	1012	1018	Dezoxiriboza
1049	1048	1048	1048	Dezoxiriboza (C-O "stretch")
1074	1074		1074	Dezoxiriboza (C-O "stretch")
1103	1106	1104	1100	$\nu_s\text{PO}_2^-$
1146	1145	1147	1144	Dezoxiriboza, C3'-endo/anti, forma A
1247	1246	1247	1248	$\nu_a\text{PO}_2^-$ , posibil forma A
1329	1332	1328	1332	dA
1359	1374	1370		dA, dG (C2'-endo/anti)
1417	1416	1417	1416	Dezoxiriboza C2'-endo/anti, forma B
		1510	1510	Moduri vibrationale ale inelelor bazelor
1613	1614	1614	1631	dA, posibil C=C, C=N
1736	1734	1732	1740	dG, dT, modul C=C de tip "stretching" al bazei

\* Abrevieri: dA-dezoxiadenozina; dG-dezoxiguanozina; dC-dezoxicitidina; dT-dezoxitimidina.

(sursa Ștefan și colab., 2014)

## **Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**

Cele mai multe efecte sunt observate în cazul câmpului electric, unde apar atât modificări mari ale frecvențelor de vibrație cât și modificări mari ale maximelor de frecvență, modificarea fiind prezentă la mai multe fragmente.

Probele expuse radiației gamma, câmpului magnetic și electric prezintă aceleași efecte de creștere a frecvenței de vibrație corespunzătoare fragmentului dezoxiadenozină și dezoxiguanozină.

În unele cazuri, este pusă în evidență coexistența mai multor conformații moleculare (de exemplu, A, B și Z) în ADN-ul genomic studiat.

Influența globală a câmpului electric asupra frecvențelor de vibrație caracteristice diferitelor fragmente moleculare, se regăsește în comportamentul macroscopic al plantei, prin urmărirea efectelor fiziologice de dezvoltare a plantei.

## **CONCLUZII**

Cercetările întreprinse pe durata studiilor doctorale și cuprinse în prezenta teză de doctorat tratează domenii de actualitate precum câmpurile fizice, identificate tot mai mult în mediul înconjurător și acțiunea lor asupra tuturor organismelor vii, precum și spectroscopia în infraroșu utilizată pentru identificarea schimbărilor provocate la nivelul moleculei de ADN.

Specia *Arabidopsis thaliana*, materialul biologic luat în studiu este de o deosebită importanță pentru biologia vegetală, numeroase cercetări genetice bazându-se pe această plantă care oferă avantajele unor analize genetice și moleculare rapide, ca urmare a ciclului de vegetație scurt, a genomului mic și simplu și a prolificității sale.

Concluziile desprinse din interpretarea observațiilor și rezultatelor obținute în urma studiilor realizate, în concordanță cu obiectivele propuse, sunt sintetizate mai jos:

1. **Câmpul electric**, factor extern de stres, a declanșat răspunsuri din partea speciei *Arabidopsis thaliana*, concentrate în următoarele concluzii generale:

- i) Expunerea semințelor, înainte de germinație, face ca procesele care se desfășoară la nivel embrionar să sufere o accelerare, funcțiile de diviziune

---

## Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice

celulară a embrionului fiind stimulate, și astfel germinația să se desfășoare mai repede.

- ii) Intensitatea câmpului electric de 2,74 V/m a produs efecte stimulativе asupra semințelor de *Arabidopsis* la toate cele trei intervale de timp testate, rezultatele cele mai bune obținându-se în cazul expunerii semințelor la această intensitate pentru 15 minute.
- iii) Pornind de la proprietatea câmpului electric de a acționa asupra corpurilor electrizate, și analizând datele obținute, se poate supune că semințele de *Arabidopsis* sunt, sau au fost electrizate, fapt ce a dus la posibilitatea stabilirii efectului de stres produs de câmpul electric.
- iv) Câmpul electric a produs deplasări de frecvență în cazul grupării  $\text{PO}_2^-$ , deplasările datorându-se redistribuirii de sarcini electrice pe gruparea  $\text{PO}_2^-$ , precum și cele mai multe modificări ale frecvențelor de vibrație și ale maximelor de frecvență.

2. **Câmpul magnetic**, conform datelor obținute, a acționat asupra semințelor, desprinzându-se următoarele concluzii:

- i) Factorul de stres, câmp magnetic, a exercitat efecte de stimulare asupra germinației semințelor, gradul de stimulare fiind diferit și invers proporțional cu creșterea timpului de acțiune.
- ii) Stimularea semințelor în câmp magnetic a produs efectele dorite, respectiv, creșterea procentului final de germinație de la 95 la 97%.
- i) Variantele de 40 și 50 minute au produs modificări la nivelul dezoxiribozei prin întinderea vibrației din legătura C-O.

3. Iradierea semințelor în fascicul **LASER** se sintetizează astfel:

- i) Indicatorii de determinare ai germinației au fost îmbunătățiți pe măsură ce perioada de expunere la radiația laser a crescut, atingând valoarea maximă pentru intervalul de 15 minute.
- ii) Timpul mediu necesar pentru ca semințele să germineze a fost mai redus în cazul variantelor iradiate.

4. Utilizarea **câmpului de torsiune** a generat următoarele concluzii:

---

## Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice

- i) Prezența câmpului torsional de dreapta în apropierea semințelor de *Arabidopsis* a determinat o îmbunătățire evidentă a procesului de germinație descris de indicii luați în studiu.
- ii) Creșterea timpului de expunere a semințelor în câmp torsional de stânga, produce modificări susținute statistic în sensul îmbunătățirii procesului germinativ.
- iii) Semințele uscate supuse câmpului torsional, în 2/3 din cazurile cercetate, înregistrează valori mai mari decât ale semințelor umede.

### 5. **Radiațiile $\gamma$** (gamma) au produs următoarele efecte:

- i) Atât semințele din probele expuse la radiații gamma de intensități scăzute, cât și cele expuse la radiații de intensități ridicate, au manifestat un răspuns la factorul de stres manifestat prin reducerea în intensitate a procesului germinativ, și implicit al reacțiilor la nivelul seminței, exprimate prin indicii de germinare luați în studiu.
- ii) Exceptând varianta de 1,5 Gy, toate celelalte variante iradiate cu radiații gamma au înregistrat diferențe mai mici, foarte semnificative statistic comparativ cu martorul.
- iii) Acțiunea radiațiilor  $\gamma$  a determinat ruperi în structura ADN-ului, ruperi care încep cu ruperea legăturilor de hidrogen și caracterizate prin creșterea de frecvență observată în cazul dezoxiadenozinei și dezoxiguanozinei.
- iv) Radiațiile  $\gamma$  de intensități mari pot duce la ruperea legăturilor chimice din molecula ADN-ului.

### 6. Concluziile desprinse în urma acțiunii **modulatorilor bio-fito-dinamici de tip A.D.** asupra speciei *Arabidopsis thaliana* sunt următoarele:

- i. Dispozitivul pentru încărcare și echilibrare energetică (D.I.E.E.), aplicat ca factor de stres asupra semințelor, a obținut de la acestea un răspuns în sensul accelerării procesului germinativ descris de indicii discutați.
- ii. O echilibrare și îmbunătățire a procesului germinativ s-a observat și pentru dispozitivul de energizare al apei (D.E.A.), care a



---

## Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice

prezentat reacții stimulative la nivelul semințelor și implicit a germinației.

### Recomandări:

- Câmpul electric a determinat cele mai multe modificări ale fragmentelor ADN determinate cu ajutorul spectroscopiei FT-IR, ceea ce îl recomandă în utilizarea la scară mare pentru îmbunătățirea procesului de germinație al plantelor de cultură, precum și în modificarea diverselor fragmente ADN. Dezavantajul pe care îl prezintă este acela că dacă se dorește o anumită modificare, există riscul să se producă mai multe.
- Utilizarea câmpurilor fizice la scară largă pentru stimularea și accelerarea germinației, reprezintă o alternativă neinvazivă și nepoluantă la metodele folosite în prezent.

### **BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ**

1. Anjum, L., R. Bajwa, (2005), *Importance of germination indices in interpretation of allelochemical effects*, International Journal of Agriculture and Biology 7, 417-419.
2. Campbell, W.H., (2003), *Introduction to geomagnetic fields (2nd ed.)*, Cambridge University Press, New York.
3. Crețu, T.I., (1984), *Fizică generală*, Vol. I, București: Editura Tehnică, 282-299.
4. Dorohoi Dana-Ortansa, (2003), *Elemente de fizică și biofizică. Fenomene naturale în atmosfera terestră*, Editura Tehnică Științifică și Didactică, Iași.
5. **Inoan Simona-Laura**, H.R. Criveanu, (2014), *Influence of torsion field on Arabidopsis thaliana seeds germination*, Agriculture Science and Practice Journal, Vol. 89, No. 1-2, 154 – 157.

**Evaluarea stresului la specia *Arabidopsis thaliana* expusă la diferite câmpuri fizice**

6. Matheu, H., R.L. Stevenson, (1990), *The Effect of an Electrical Field on Germination and Growth of Seedlings*, HortScience, Vol.25
7. Mocanu, T.I. (1981), *Teoria câmpului electromagnetic*, București: Editura Didactică și Pedagogică.
8. Peerzada, Y.Y, K.U.R. Hakeem, R.Chandna, P. Ahmad, (2011), *Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability*, Sprincer Science&Business Media, 149-158.
9. Pop Rodica, (2008), *Studiul variabilității somaclonale la vița de vie cu ajutorul markerilor moleculari*, Editura Bioflux, Cluj-Napoca, 94-96.
10. Purcell, E.M., (1982), *Electricitate și magnetism - Cursul de fizică Berkely*, Volumul II, București: Editura Didactică și Pedagogică.