

REZUMAT

Cuvinte cheie: *Phaseolus vulgaris* L., populații locale, toleranță, rezistență, stres salin

Terra este considerată o planetă sărată, deoarece aproximativ 71% din suprafață este acoperită de ape sărate; circa 6% din suprafața totală și 20% din terenurile irigate sunt afectate de salinitate, ceea ce înseamnă mai mult de 800 de milioane de hectare de teren afectate de salinitate la nivel mondial (FAO, 2009).

Programul Organizației Națiunilor Unite pentru Mediu (UNEP) estimează că aproximativ 50% din terenurile agricole din lume sunt afectate cu săruri (Flowers and Yeo, 1995). Salinitatea solului este a doua cauză majoră de degradare a terenurilor după eroziune, de circa 10.000 de ani. La nivel global, aproximativ 2.000 de hectare de teren arabil își pierd din productivitate, în fiecare zi, din cauza salinizării. Salinitatea determină o scădere a randamentului cu 10-25% pentru multe culturi și poate împiedica productivitatea unora în totalitate.

La nivelul Uniunii Europene există importante areale cu soluri saline, cele mai multe situate în jurul Mării Caspice, Bazinului Carpatic, Câmpiei Panoniei și Peninsulei Iberice; aici salinitatea solurilor afectează în jur de 1 milion de ha. În România, soluri saline au fost identificate în 29 de județe ale țării, iar suprafața totală a acestora a ajuns să fie de 614.000 ha.

În țara noastră, fasolea se cultivă începând cu secolul al XVIII-lea, zonele cele mai favorabile fiind cele de sud, sud-est și sud-vest, în zona de câmpie și în luncile celor mai importante râuri. Conform statisticilor FAO, în prezent, specia *Phaseolus vulgaris* L. se cultivă pe circa 12.000-13.000 ha, cu o producție totală de 42.000-50.000 tone. Aceasta este adaptată în general la medii cu temperaturi moderate, precipitații de aproximativ 400 mm, cu o perioadă de vegetație de 60-120 de zile. Popularitatea culturii provine din faptul că este relativ ușor de produs, este savuroasă și versatilă, fiind importantă din punct de vedere alimentar, agrotehnic și social-economic. Totodată, această leguminoasă se cultivă atât pentru semințe uscate (fasolea de câmp), cât și pentru păstăi verzi (fasolea de grădină), semințe verzi-mature, dar și incomplet uscate (fasolea bobii), care se folosesc în totalitate în alimentația omului (Bârcă, 2013).

Din punct de vedere agrotehnic, fasolea este o cultură foarte importantă, deoarece are proprietatea de a fixa azotul atmosferic cu ajutorul bacteriilor *Rhizobium* sp. (Munteanu, 2003).

Cu toate acestea, *Phaseolus vulgaris* L. este o plantă glicofită, iar nivelurile scăzute de salinitate a solului de cca. 2 dS·m⁻¹ reduc semnificativ productivitatea culturilor (Pessarakli, 1999). La o salinitate echivalentă cu 100 mM NaCl, randamentul plantelor se reduce cu 85% (Szilaghy, 2003), deși unele soiuri par a fi mult mai tolerante la stresul salin, decât altele (Kaymakanova and Stoeva, 2008). Bayue-los et al. (2002) au raportat o creștere a salinității de la 0 la 180 mM NaCl, care scade procesul de germinare cu 50% la speciile din genul *Phaseolus*, iar cercetările făcute de Dobrei și colab., (2007) la *Phaseolus vulgaris* L. atestă că această specie prezintă o mare variabilitate în privința toleranței la stres salin, pornind de la 40-46 mM NaCl până la valori cuprinse între 196-207 mM NaCl. Prin urmare, creșterea randamentelor culturilor de fasole s-ar putea realiza pe baza selecției genotipurilor tolerante la salinitate (Fita et al., 2015).

Scopul principal al tezei îl reprezintă o mai bună înțelegere a mecanismelor fiziologice și biochimice implicate în toleranța la salinitate a speciei *Phaseolus vulgaris* L., dar și identificarea unor populații locale de fasole tolerante la acest factor abiotic, din cadrul populațiilor colectate.

Teza de doctorat cuprinde cinci capitole, cu 198 pagini, 23 tabele și 86 figuri, fiind structurată în două părți:

Partea I cuprinde aspecte și studii bibliografice cu privire la: problema salinizării și alcanizării solului pe glob, conceptul de stres, toleranța plantelor la condiții nefavorabile de mediu, acțiunea dăunătoare a concentrației ridicate de săruri asupra plantelor de fasole și a altor specii. Această parte este redactată pe 23 de pagini, reprezentând 11,6% din întreaga teză și cuprinde trei figuri.

Partea a II-a este redactată pe 101 pagini, reprezentând 53,5% din întreaga teză, și cuprinde 83 figuri și 23 de tabele. Această parte include rezultatele cercetărilor proprii, cu privire la subiectul tezei de doctorat.

Materialul biologic a fost colectat din următoarele localități: Săveni, Trușești, Codreni, Copălău și Iezer, din județul Botoșani, Moșna din județul Iași și Blăgești din județul Vaslui. Din cele 13 de populații locale colectate inițial, în urma unei pretestări în faza de răsad, s-au selectat 7 populații locale ca fiind mai rezistente la condițiile de stres salin aplicate. Astfel, au rămas pentru cercetare populațiile locale colectate din localitățile: Săveni, Trușești, Moșna și Blăgești.

Metodele de cercetare. În perioada 2017-2019, au fost studiate 7 populații locale de fasole, care au fost supuse unor testări fiziologice și biochimice ce au urmărit: suprafața foliară, conținutul de apă la nivel foliar, ritmul de deshidratare foliară, analiza conținutului de pigmenți fotosintetici, conductanța stomatelor, conținutul de Na^+ și Cl^- din frunze, conținutul de prolină din frunze, conținutul în proteină brută a boabelor, plus elemente legate de producție. Aceste determinări vizează evidențierea răspunsul acestor populații locale la stresul salin.

Experiența a fost amplasată în sera ICAM Iași, iar analizele de laborator s-au efectuat în perioada 2017-2019, în laboratorul de "Fiziologie vegetală" a Facultății de Agricultură, din cadrul USAMV Iași, la "Institutul de Cercetări pentru Agricultură și Mediu" (ICAM), din Iași și la "Laboratorul de control al calității nutrețurilor" din cadrul U.S.A.M.V. Iași.

Experiența bifactorială a fost înființată în vase de vegetație și organizată sub forma blocurilor randomizate cu trei variante. Doi factori au influențat experimentul: factorul A, reprezentat de trei concentrații de NaCl (V1 - apă, V2-100 mM NaCl și V3 - 200 mM NaCl) și factorul B reprezentat de populațiile locale de fasole luate în studiu. 372 de plante au fost studiate în cei doi ani de experimentare.

Determinările s-au realizat la 15 și 30 de zile de la aplicarea concentrațiilor de NaCl.

Suprafața foliară reprezintă un indice fiziologic cu o importanță majoră în ceea ce privește caracterizarea intensității proceselor de creștere, transpirație, respirație și fotosinteză. Determinarea suprafeței frunzelor din treimea de mijloc a tulpinii, s-a realizat cu aparatului portabil Leaf Area Meter AM 300-0002.

În primul și al doilea an experimental, suprafața foliară a scăzut direct proporțional cu concentrațiile saline aplicate, manifestându-se un efect negativ al sărurilor la frunzele din zona mediană; explicația reiese din faptul că aceste frunze și-au început creșterea sub efectul dozelor aplicate, cât și prin faptul că ionii minerali au fost transportați odată cu apa spre zonele cu transpirație mai intensă unde s-au acumulat, determinând toxicitate. Valori mai ridicate ale suprafeței foliare s-au înregistrat la populațiile locale Blăgești 1, Blăgești 2, Blăgești 3, Blăgești 4 și Trușești 2, care indică o bună rezistență la stresul salin.

Evaluarea procesului de fructificare a fost realizat pe baza următorilor indici biometrici: numărul mediu de boabe/plantă și greutatea medie a boabelor/păstaie.

În primul an de studiu, producția (numărul de boabe pe plantă) a fost semnificativ influențată de tratamentul salin aplicat, la ambele concentrații. La varianta tratată cu 200 mM cele mai reduse valori s-au

înregistrat la populația Blăgești 4, care a avut o producție de 93,40% din cea a martorului. În schimb, populația Săveni a înregistrat o producție redusă de 25,00%, iar Trușești 2 de 39,13% din varianta control.

Concentrațiile de 100 mM și 200 mM NaCl au influențat negativ greutatea boabelor de fasole, în cazul celor șapte populațiile locale studiate și a oscilat între 41,17% (Moșna) și 91,85% (Blăgești 4) din cea a martorului.

În anul doi de studiu, cele mai productive populații au fost Blăgești 1, Trușești 2 și Săveni, la ambele variante. În acest caz, producția a oscilat între 32,18 % (Blăgești 3) și 78,12% (Săveni). Greutatea boabelor/păstaie s-a redus cu mult și de această dată, oscilând între 23,05 % și 72,11%.

Regimul hidric a fost evaluat prin analiza conținutului de apă din frunze și a ritmului de deshidratare foliară.

Conținutul de apă din frunze s-a investigat prin determinarea celor două forme de apă: liberă și legată.

În primul an de studiu, după 30 de zile de la aplicarea tratamentelor salină a avut loc o ușoară creștere a conținutului total de apă pentru toate populațiile, aceasta oscilând între 59.93% și 82.30%. În acest caz se remarcă populația Blăgești 2 și Trușești 2 de la varianta 200 mM. Conținutul de **apă liberă** a fost mai redus în comparație cu varianta control pentru cinci populații (Blăgești 1, Blăgești 2, Moșna, Trușești 2 și Săveni), ceea ce sugerează că reducerea conținutului de **apă liberă** a mărit capacitatea biologică de toleranță a plantelor studiate la condițiile de stres abiotic. În schimb, a avut loc o creștere a cantității de **apă legată** care a sporit rezistența plantelor la concentrația ridicată de 200 mM. În primul an de studiu toate populațiile locale (Blăgești 1, Blăgești 2, Blăgești 3, Blăgești 4, Săveni, Moșna, Trușești 2) au prezentat un grad mai ridicat de adaptare datorită cantității mari de apă legată, asimilată în condițiile unui stres salin.

În anul al doilea de studiu s-a înregistrat un conținut apropiat de apă totală la toate cele trei variante, în special la populațiile locale Blăgești 2, Săveni, Moșna și Blăgești 3. Un conținut de **apă liberă** mai redus în comparație cu varianta martor a fost înregistrat pentru patru populații locale (Blăgești 2, Blăgești 4, Săveni și Trușești 2), ceea ce demonstrează capacitatea biologică de toleranță a plantelor la stres salin. În schimb, doar trei populații locale au prezentat o cantitate mare de **apă legată**, la concentrația de 200 mM, ceea ce ne sugerează că Blăgești 2, Săveni și Blăgești 1 prezintă un grad mai ridicat de adaptare.

Ritmul de deshidratare al frunzei poate varia în funcție de însușirile morfo-anatomice și fiziologice ale frunzei și reprezintă un indiciu esențial al intensității transpirației. Plantele care prezintă rezistență la salinitate se caracterizează printr-o transpirație cuticulară și o viteză de deshidratare a frunzelor mai redusă. În primul an de studiu s-au evidențiat populațiile locale Trușești 2 și Blăgești 2. Pentru anul doi de studiu, putem afirma că toate populații luate în studiu prezintă o capacitate bună de adaptare la condițiile de stres salin aplicate pe o perioadă lungă de timp, deoarece au înregistrat o viteză de deshidratare mai redusă în comparație cu varianta luată martor, odată cu aplicarea soluției salină de 200 mM NaCl.

Analiza conținutului de pigmenti foliari care reflectă intensitatea procesului de fotosinteză s-a realizat prin metoda spectrofotometrică și cu aparatul CCM 200 PLUS.

În primul an de experimentare, după 30 de zile de tratament salin, în cazul expunerii la 100 mM și 200 mM NaCl, rezultatele obținute la populațiile Moșna, Săveni, Trușești 2, Blăgești 4, Blăgești 2 și Blăgești 1 indică menținerea acestora în faza de stres osmotic și o bună adaptare la un ritm fotosintetic intens.

În al doilea an de studiu, aplicarea tratamentului salin de 200 mM a determinat valori superioare ale concentrației pigmentilor clorofilieni pentru populațiile locale Blăgești 4, Blăgești 2, Blăgești 1 și Săveni ceea ce ne permite să concluzionăm faptul că aceste populații prezintă un potențial destul de ridicat la stresul salin aplicat.

Din rezultatele obținute, putem afirma că populațiile locale studiate se înscriu în modelul bifazic propus de Munns (1993). Astfel, trecerea de la prima fază de stres osmotic la cea de-a doua fază de toxicitate se manifestă în funcție de intensitatea stresului salin și de populația cultivată.

Conductanța stomatică foliară la fasole a fost determinată cu ajutorul porometrului SC-1. Rezultatele obținute după 15 zile și 30 de zile de la aplicarea tratamentelor saline au înregistrat valori care indică că cele două concentrații aplicate au influențat conductanța stomatelor, determinând diferențe semnificative între populații. Astfel, în ambii ani de studiu, conductivitatea stomatică foliară la sfârșitul tratamentului a fost în general redusă la populațiile locale de fasole, excepție făcând populația Blăgești 2, de la varianta 200 mM.

Prolina este un aminoacid care manifestă o activitate antistres în special prin efectul antioxidant. În primul an de studiu, la sfârșitul tratamentului se observă că odată cu creșterea concentrației saline, crește și concentrația prolinei în plante, la patru dintre populații locale studiate (Trușești 2, Blăgești 4, Blăgești 1, Blăgești 2), valorile oscilând între 2,80 nmol·mg s.p. și 4,70 nmol·mg sp. Totodată, se constată o creștere liniară, ce semnifică faptul că prolina are rol în mecanismul de adaptare al plantelor de fasole la stresul salin.

În anul al doilea de studiu, după 30 de zile de la aplicarea tratamentelor saline s-au remarcat populațiile locale Blăgești 2, Săveni și Blăgești 4; de această dată, valorile au oscilat între 9,70 nmol·mg s.p. și 12,10 nmol·mg s.p., iar acest conținut ridicat în prolină indică faptul că aceste populații locale încearcă prin intermediul diferitelor mecanisme să dobândească rezistență la salinitate.

Natriul este un element absorbit mai lent comparativ cu alți cationi, iar nivelul lui în plante are valori mici. Rolul fiziologic al sodiului constă mai ales în reducerea transpirației. Acesta are ca funcție menținerea presiunii osmotice în celule. Insuficiența sodiului la plantele halofile se manifestă prin culoarea deschisă a frunzelor, aproape albă și prin apariția de pete necrotice. Simptomele carenței sunt vizibile la frunzele bătrâne. Astfel, în primul an de studiu, la sfârșitul tratamentului, la cele șapte populații de fasole s-a constatat că odată cu creșterea concentrației saline sporește și concentrația de Na^+ din frunze, valoarea maximă înregistrată în cazul variantei tratate cu 200 mM a fost de 0,46 mg/100 mg s.u. la populația Trușești 2, iar valoarea minimă la populația Blăgești 1, respectiv 0,25 mg /100 mg s.u.

La o parte dintre populațiile locale de fasole studiate (Blăgești 1, Blăgești 3, Săveni) s-a observat prezența unor simptome de toxicitate, ceea ce indică faptul că acestea nu sunt capabile să suporte aceste concentrații. De altfel, frunzele mature nu au capacitatea de a acumula Na^+ și a asigura protecție celulelor meristematice și celor cu creștere activă. Pe de altă parte, **clorul** este implicat în fotosinteză, cu rolul de a îndepărta oxidanții dăunători sistemelor fotochimice și stimularea transportului de electroni. Acesta are rolul de a regla potențialul osmotic menținând nivelul hidric celular. Excesul acestui microelement influențează negativ creșterea plantelor prin degradarea metabolismului glucidic (Covașă, 2016).

În cazul genotipurilor analizate, valorile conținutului de clor au fost mai mari la varianta tratată cu 200 mM NaCl, comparativ cu varianta control. Astfel, în primul an de studiu valoarea maximă atinsă a fost de 12,10 mg/100 mg s.u. la Blăgești 1, iar cea minimă a fost de 5,45 mg/100 mg s.u. la Trușești 2. În anul doi de studiu, valorile conținutului de Cl⁻ sunt semnificativ mai mari față de martor, la varianta

tratată cu 200 mM. Valoarea maximă atinge 18,67 mg/100 mg s.u. la Blăgești 1, iar valoarea minimă este de 4,56 mg/100 mg s.u. la Blăgești 2.

Phaseolus vulgaris L. este o sursă importantă de **proteină brută**, chiar dacă această cultură este puternic afectată de salinitatea solului, dar informațiile despre genele care joacă un rol în toleranța la săruri sunt puține.

În primul an de studiu, conținutul de proteină a scăzut datorită dozele aplicate; conform studiilor de specialitate stresul salin a provocat acumularea de anioni, nitrați și aminoacizi liberi, care au determinat o sinteză a proteinelor redusă, ce a dus în final la o creștere anormală a plantelor și la un randament scăzut al populațiilor. Totuși, un procent ridicat de proteină s-a înregistrat la Trușești 2, Blăgești 2 și Blăgești 4.