

Utilizarea fluidelor nano-magnetice in rizogeneza *in vitro* a speciilor lemnoase

Corneanu Mihaela*, Corneanu Gabriel**

*USAMV Banatul Timisoara, Calea Aradului 119, Timisoara, micorneanu@yahoo.com,

**Universitatea din Craiova, Dept. Genetica, Str. A. I. Cuza, 13, Craiova, gabicorneanu@yahoo.com

Fluidele nano-magnetice (NMF) sunt suspensii coloidale de magnetita si au inceput sa fie testate la cultura *in vitro* dupa 1990. Principalele cai de preparare a fluidelor magnetice prin metode de condensare chimica, descriu aproape 50 tipuri de fluide magnetice (polare si non-polare) utilizate in aplicatii tehnice sau biomedicale (Vékás et al., 2002). Experimente efectuate la cultura *in vitro* a unor specii lemnoase, la a caror multiplicare in conditii clasice procesul de rizogeneza este deficitar, au evidentiat efectul stimulor al NFM, dependent de tip, concentratia sa in mediul de cultura si procesul de organogeneza analizat, precum si de asocierea sau nu a NFM cu o alta substanta bioactiva. In urma experimentelor efectuate, s-a relevat faptul ca suplimentarea mediului de cultura cu mici cantitati de fluide magnetice (de ordinul miligramelor pe litru mediu de cultura), determina o stimulare a dezvoltarii si organogenezei, amplificand efectul fitohormonilor de crestere, sau chiar substituindu-i.

MATERIAL SI METODA

Material biologic: subcultura *Robinia pseudoacacia* (lastari neformati 5 mm), *Prunus avium* (lastari neformati de diferite dimensiuni), *Prunus armeniaca* (lastari neformati 5 mm).

Mediu de cultura: Murashige – Skoog (1962) suplimentat cu diverse balante hormonale si NMF.

Tipuri de NMF testat: FM 11 – Fe²⁺ : Fe³⁺ = 1:1, solvent petrol, stabilizant acid oleic (prof. Minea Romulus, UP Timisoara) FM 12 – Fe²⁺ : Fe³⁺ = 1:1,9, solvent petrol, stabilizant acid oleic (prof. Gabor Lazar, UP Timisoara); FM 20 – Fe²⁺ : Fe³⁺ = 1:1, solvent petrol, stabilizant petrol (dr. Doina Bica UP Timisoara).

Prelucrarea observatiilor biometrice: programul STATISTICA 8

REZULTATE SI DISCUTII

Robinia pseudoacacia var. oltenica a fost identificata si semnalata in anul 1966 de catre reputatul cercetator in domeniul silviculturii, ing. E. Birlanescu, intr-o populatie din sudul Olteniei, pe teritoriul O.S. Calafat, punctul "Grindul cu bani". Inmultirea vegetativa rapida, prin micropropagare *in vitro* a genotipurilor selectate, cu insusiri superioare de crestere, calitate a lemnului si rezistenta, aduce un important progres genetic, in scurt timp si are de asemenea efecte economice majore (Bonge, J. M. 1982; Brown & Sommer, 1982).

Rezultate foarte bune au fost obtinute (la 60 de zile dupa inoculare) mediul de cultura MS + 1,8 mg/l IAA + 0,011 mg/l KIN suplimentat cu 90 mg/l NFM tip emulsie pe baza de petrol FM 11 – iradacinare 100%, plantule cu internodii scurte, 8-13 frunze, 30 – 40 mm inaltime, la aceasta varianta aparand si un fenomen de lastarire bazala, formandu-se 1-2 lastari/explant, comparativ cu V1 control la care doar 40% dintre explante au iradacinat, avand 25-45 mm inaltime. Analiza varianta a relevat efectul semnificativ pozitiv al NMF asupra procesului de caulogeneza si rizogeneza (Tabel 1).

Prunus avium L. Interesul existent, din punct de vedere economic si ecologic pentru *P.avium* aduce in atentie necesitatea micropropagarii in masa a clonelor valoroase. In ultimii ani interesul international pentru aceasta specie a crescut foarte mult, in special in ceea ce priveste aspectele de micropropagare. In 1998, Scaltsoyiannis si colab. au comunicat rezultate obtinute in rejuvenalizarea si micropropagarea la *Prunus avium* (clone de importanta forestiera), mentionand faptul ca acestea sunt recalcitrante la procesul de iradacinare.

Elongarea lastarilor si organogeneza foliara a fost stimulata semnificativ de suplimentarea mediului de cultura cu 28 mg/l FM-20. Pentru procesul de lastarire lastarii de 1-2 mm au reactionat cel mai bine, cultivati pe mediul MS + 1.0 mg/l IBA + 2.0 mg/l BAP + 0.1 mg/l GA3 + 28 mg/l FM-20 (Fig.1). Prezenta fluidelor magnetice in mediul de cultura, in absenta hormonilor, a indus un proces de rizogeneza timpuriu, la 30 de zile dupa inoculare 15% dintre lastari prezentand radacini. Efectul stimulator asupra procesului de iradacinare, calculat la sfarsitul experimentului, a fost foarte semnificativ (F = 37,545, p = 0.00000). Percentul de plantule iradacinate a fost cel mai mare pe mediul fara hormoni, cu 300 mg/l fluid magnetic, 78, 5%, numarul de radacini nu a fost mare, insa acestea erau puternice, lungi, cu multe ramificatii. De asemenea a fost observat un efect stimulator tardiv asupra organogenezei foliare, diferentele, in comparatie cu controlul, devenind semnificative la sfarsitul experimentului (Tabel 2)

La cais, *Prunus armeniaca*, specie cu o mare diversitate a germoplasmei, cu un grad mare de heterozigotie, sensibila la conditiile ecologice si susceptibila la boli, factori care limiteaza si chiar compromit recolta, micropropagarea *in vitro* poate fi o metoda eficienta de a obtine material saditor sanatos, liber de agenti patogeni, uniform, in conditii de mediu controlate, dar si de vitroconservare a resurselor genetice.

Pentru initierea rizogenezei este necesara utilizarea unui mediu de cultura mai sarac in saruri, utilizandu-se de obicei 1/2-2/3 din mediul bazal, suplimentat cu auxine. In cazul suplimentarii mediului de cultura cu fluid magnetic FM 11(60 mg/l) la hibridul F2 'Excelsior' x 'Comandor', chiar si cu un supliment hormonal minimal (80% MS + 0.1 mg/l BAP + 0.1 mg/l IBA + 0.1 mg/l GA3) se poate obtine o rata de iradacinare de 100% (Corneanu et al., 2007). Analiza variantei efectuata la datele obtinute la 60 de zile dupa inoculare, a aratat efectul foarte semnificativ pozitiv asupra procesului de caulogeneza si distinct semnificativ asupra procesului de rizogeneza (Tabel 3).

CONCLUZII

- Efectul NMF este dependent de raportul ionilor de Fe (bivalent si trivalent), tipul de agent stabilizant (acid oleic, petrol) si lichidul de suspensie (apa, petrol, acid oleic).
- In cazul explantelor cultivate pe medii suplimentate cu fluide nano-magnetice, s-a constatat intensificarea metabolismului celular, exprimat diferit dependent de specia vegetala, tipul de organ, tipul de fluid nano-magnetic.
- La *Prunus avium*, *P. armeniaca*, *Robinia pseudoacacia*, cultivate pe medii suplimentate cu 20-100 mg/l NMF s-a remarcat stimularea semnificativa a caulogenezei si organogenezei foliare. La specii recalcitrante la iradacinare (*Prunus avium*, *P. armeniaca*) a fost indus procesul de rizogeneza utilizand concentratii mai mari de NMF (80-1380 mg/l).
- Dezvoltarea echilibrata a plantulelor si procesul de iradacinare sunt stimulate de suplimentarea mediului de cultura NFM.

Bibliografie

- Vékás L., Bica D., Rasa M., Balau O., Potencz I., Gheorghe D., 2002 – Magnetic fluids – a special category of nanomaterials. Preparation and complex characterization methods. White Book of the micro- and nanotechnologies (Ed. D. Dascalu): 1-24. Edit. Politehnica, Timisoara.
Corneanu M., Mândriliu G., Corneanu C.G., Cristea C., Atyjn P., Nețoiu C., Bica D., 2004- In vitro micropropagation in *Robinia pseudoacacia var. oltenica*. Proceedings ESNA XXXIV Annual Meeting, Novi Sad, Serbia and Montenegro, Ed. Monograf. Novi Sad: 231-234
Viorica Balan, Valeria Tudor, Elena Topor, Mihaela Corneanu, 2007- Apricot genetics and biotechnology in Romania, The European Journal of Plant Science and Biotechnology 1(2): 152-169.

Cercetarile au fost finantate prin grantul CNCIS 301 (2004- 2006) si CNCIS 1180 (2007-2008)

Tabelul 1

Variabila dependenta	Efect NFM (testul Fisher) n= 97		
	F	p	Semnif.
Elongare lastar	1,752054	0,144835	(-)
Organogeneza foliara	0,791333	0,533592	(-)
Proces caulogeneza	2,390491	0,046006	*
Proces rizogeneza	2,586031	0,043241	*



Foto 1. Plantula iradacinata de *R. pseudoacacia var. oltenica*

Foto 2. Procesul de caulogeneza, concomitent cu iradacina la *R. pseudoacacia var. oltenica*



Tabelul 2

Nr. zile	Variabila dependenta	Efect NFM (testul Fisher) n=50		
		F	p	Sam. nif.
30	Elongare lastar	0,0000	1,0000	(-)
	Organogeneza foliara	0,0955	0,7585	(-)
45	Elongare lastar	0,1686	0,6830	(-)
	Organogeneza foliara	0,0798	0,7786	(-)
60	Proces rizogeneza	0,0316	0,8595	(-)
	Elongare lastar	0,0821	0,7755	(-)
60	Organogeneza foliara	5,4192	0,0240	*
	Proces rizogeneza	37,545	0,0000	***

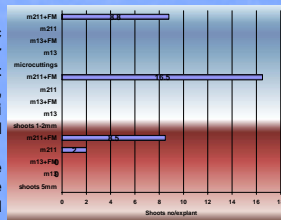


Fig. 1. Procesul de caulogeneza la *P. avium*, dependent de tipul de explant si mediul de cultura

Tabelul 3

Variabila dependenta	Efect (testul Fisher) n= 101		
	F	p	Se mni f.
Elongare lastar	0,04637	0,8299	(-)
Organogeneza foliara	1,95515	0,1650	(-)
Proces caulogeneza	18,91354	0,0000	***
Proces rizogeneza	11,34561	0,0010	**



Foto 3. procesul de caulogeneza pe mediu cu NMF (dreapta) si control (stanga)