



UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ CLUJ-NAPOCA

Facultatea de Horticultură

Calea Mănăștur 3-5, 400372, Cluj-Napoca

Tel: 0264-596.384, Fax: 0264-593.792

www.usamvcluj.ro



Inginer diplomat

Lucica-Alina MIHALTE

TEZĂ DE DOCTORAT

**Studiul Variabilității Genetice la
Cactaceae și Posibilități de
Obținere de Noi Genotipuri**

Rezumat al tezei de doctorat

Conducător științific:
Prof. Dr. Radu SESTRĂȘ

Cluj-Napoca
2010

CUPRINS

Introducere	1
Capitolul I Importanța și diversitatea interspecifică a familiei <i>Cactaceae</i>	2
1.1. Importanța familiei <i>Cactaceae</i>	2
1.2. Diversitatea familiei <i>Cactaceae</i>	2
1.2.1. Specii pe cale de dispariție ale familiei <i>Cactaceae</i>	3
1.3. Caracteristici morfologice ale plantelor de tip „cactaceu”.....	4
1.4. Caracteristici morfologice ale florilor de tip „cactaceu”.....	5
1.5. Caracteristici genetice și de biologie ale reproducerii și înmulțirii familiei <i>Cactaceae</i> .	7
1.5.1. Caracteristici genetice ale familiei <i>Cactaceae</i>	8
Capitolul II Materialul biologic și metodele de lucru	9
2.1. Materialul biologic.....	9
2.2. Metode de determinare a apropierii filogenetice la genotipurile studiate.....	9
2.2.1. Metoda sistematică (taxonomică)	9
2.2.2. Metoda RAPD Random Amplified Polymorphic (ADN polimorfic amplificat întâmplare)	10
2.3. Metode de evidențiere a cromozomilor în mitoză.....	10
2.4. Metode de determinare a capacității de germinare a polenului.....	11
2.5. Provocarea variabilității artificiale prin hibridare, utilizând genotipurile din colecția Grădinii Botanice „Alexandru Borza” Cluj-Napoca.....	11
2.5.1. Hibridarea interspecifică și intergenerică.....	11
2.6. Metode de determinare germinației semințelor.....	11
Capitolul III Rezultate și discuții	12
3.1. Rezultate obținute privind variabilitatea existentă la cactuși, prin aplicarea metodelor de determinare a apropierii filogenetice.....	12
3.2. Rezultate obținute privind variabilitatea existentă la cactuși, prin studiul principalelor caracteristici ale semințelor, la genurile <i>Mediolobivia</i> , <i>Rebutia</i> , <i>Aylostera</i> și <i>Sulcorebutia</i>	12
3.2.1. Corelațiile fenotipice dintre caracteristicile semințelor genurilor <i>Mediolobivia</i> , <i>Rebutia</i> , <i>Aylostera</i> , <i>Sulcorebutia</i>	14
3.2.2. Variabilitatea greutatei semințelor la genurile <i>Mediolobivia</i> , <i>Rebutia</i> , <i>Aylostera</i> , <i>Sulcorebutia</i>	14
3.3. Rezultatele obținute privind variabilitatea existentă la cactuși, prin aplicarea metodelor de markare moleculară la speciile genurilor <i>Aylostera</i> , <i>Rebutia</i> și <i>Mediolobivia</i>	15
3.3.1. Dendrograma speciilor genurilor <i>Aylostera</i> , <i>Rebutia</i> și <i>Mediolobivia</i>	16

3.4	Rezultatele obținute privind variabilitatea existentă la cactuși, prin aplicarea metodelor de markare moleculară la speciile genurilor <i>Rebutia</i> , <i>Mediolobivia</i> și <i>Sulcorebutia</i>	18
3.4.1.	Dendrograma speciilor genurilor <i>Rebutia</i> , <i>Mediolobivia</i> și <i>Sulcorebutia</i>	18
3.5.	Rezultatele privind variabilitatea existentă la cactuși, obținute prin aplicarea metodelor citologice.....	20
3.6.	Rezultatele privind variabilitatea existentă la cactuși, obținute prin analiza capacității de germinare a polenului.....	21
3.7.	Rezultatele obținute prin provocarea variabilității artificiale în vederea creării de noi genotipuri.....	22
3.7.1.	Utilizarea hibridării interspecifice și intergenerice pentru provocarea variabilității artificiale.....	22
3.7.1.1.	Alegerea genitorilor pentru hibridările artificiale.....	22
3.7.1.2.	Rezultate obținute prin efectuarea polenizărilor artificiale după modelul hibridărilor ciclice.....	22
3.7.2.	Rezultate privind variabilitatea principalelor caracteristici ale semințelor hibride obținute din combinații interspecifice.....	24
3.7.2.1.	Greutatea fructelor și greutatea semințelor, numărul de semințe/fruct și procentul de germinare	24
3.7.3.	Rezultate privind variabilitatea principalelor caracteristici ale semințelor hibride obținute din combinații intergenerice.....	25
3.7.3.1.	Greutatea fructelor și greutatea semințelor, numărul de semințe/fruct și procentul de germinare	25
3.7.4.	Corelațiile fenotipice dintre principalele caracteristici ale semințelor obținute din combinații hibride interspecifice și intergenerice.....	27
3.7.5.	Rezultate privind variabilitatea principalelor caracteristici ale hibrizilor F ₁ obținuți prin hibridări ciclice interspecifice și intergenerice.....	28
3.7.5.1.	Diametrul plantelor, numărul de spini/areolă și lungimea spinilor	28
3.7.6.	Studiul principalilor parametri genetici ai caracteristicilor analizate la hibridii F ₁	29
3.7.6.1.	Variabilitatea și heritabilitatea caracteristicilor studiate.....	29
3.8.	Rezultatele obținute privind îmbunătățirea capacității de germinare a semințelor și posibilitatea aplicării unor tratamente de creștere a procentului de germinare.....	30
Capitolul IV Concluzii și recomandări.....		32
Bibliografie selectivă.....		34

INTRODUCERE

Teza de doctorat are ca obiectiv studiul variabilității fenotipice, genotipice și moleculare la un material biologic constituit din 247 de specii de cactus, aparținând la patru genuri: *Rebutia*, *Aylostera*, *Mediolobivia*, *Sulcorebutia* (BACKEBERG, 1952-1962, 1966, 1968-1977).

Motivația alegerii acestei teme s-a datorat dorinței de a aduce o contribuție modestă la ansamblul cunoștințelor de pe mapamond, prin prisma unei anumite specii vegetale de pe Glob, și a importanței pe care o poate avea, indiferent dacă e de bază în alimentația sau subzistența omului, sau dacă are un rol doar prin contribuția la biodiversitatea lumii vii.

Cactușii prezintă un interes deosebit pentru oamenii de știință, pe de o parte datorită caracteristicilor lor de plante metamorfozate, iar pe de altă parte datorită unei taxonomii mult controversată. Astfel, BACKEBERG (1952-1962, 1966, 1968-1977) stabilește la familia *Cactaceae* 233 de genuri, BUXBAUM (1950) stabilește un număr de 156 de genuri, BARTHLOTT și HUNT (1993) 98 de genuri, GÖTZ și GRÖNER (1998) 146 de genuri; EGGLI și NYFFELER (1998) descriu doar 93 de genuri. Cea mai recentă încercare de sistematizare a familiei *Cactaceae* a fost realizată de către ANDERSON (2001), care descrie 125 de genuri, taxonomie care nu este în întregime acceptată de către botaniști, sistematicieni, geneticieni etc. Tocmai datorită unor asemenea considerente, în prezentul studiu s-a urmărit și obținerea unor informații, respectiv contribuții, în încercările de a sistematiza cele patru genuri sub denumirea de *Rebutia*, conform clasificării moderne.

Este recunoscut faptul că, odată cu expansiunea suprafețelor cultivate, biodiversitatea locală este afectată în mod negativ (ZAK și colab., 2004). Lista Roșie a Uniunii Internaționale pentru Conservarea Naturii (the International Union for the Conservation of Nature - IUCN) include 104 specii de cactuși, adică 7% din totalul speciilor (IUCN, 2008). Prin urmare, fondul genetic relativ bogat al cactușilor se restrânge, fapt care poate avea consecințe negative și asupra posibilităților de selecție. De aceea, studiul a avut ca scop și identificarea unor potențiali genitori pentru lucrările de ameliorare și provocarea variabilității artificiale care să permită efectuarea unei selecții eficiente în direcția obținerii de noi cultivaruri.

Majoritatea studiilor privind propagarea prin semințe a cactușilor sugerează doar recomandări pentru diferite rețete de substrat (GRANDET, 1995; BACH, 1998; PETERS, 1998; KOHLSCHREIBER, 1998).

Pe baza acestor considerente, în cadrul doctoranturii s-a conceput și crearea unei baze de date cu caracteristicile fenotipice ale semințelor speciilor studiate, care să fie utilă în identificarea genotipurilor și care să ofere informații relevante în ceea ce privește corelațiile fenotipice dintre caracterele semințelor și procentul lor de germinare.

Într-o prima etapă, în cadrul tezei de doctorat mi-am propus, pe baza investigării literaturii de specialitate și a unor studii specifice, să identific prin criterii morfologice și moleculare un număr cât mai mare de specii aparținând genurilor *Aylostera*, *Mediolobivia*, *Rebutia* și *Sulcorebutia*.

Caracterizarea moleculară a speciilor luate în studiu s-a realizat cu ajutorul markerilor RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA). Această etapă s-a desfășurat în cadrul Departamentului de Biotehnologii al USAMV-Cluj-Napoca, având ca suport financiar un grant tip BD, câștigat prin competiție CNCSIS în calitate de director, axat pe problematicile tezei. Rezultatele obținute prin tehnica RAPD au fost încurajatoare și au permis estimarea gradului de înrudire genetică dintre speciile studiate prin construirea dendrogramelor.

În cadrul doctoranturii, activități consistente au fost desfășurate în vederea selecției unor genotipuri valoroase, în special prin prisma valorii lor ornamentale, în scopul utilizării lor ca genitori pentru crearea de variabilitate artificială. Prin includerea genotipurilor selecționate ca forme parentale într-un program de hibridări artificiale, s-au obținut hibridi F₁, astfel încât a fost posibilă și analiza generației filiale.

CAPITOLUL I

IMPORTANȚA ȘI DIVERSITATEA INTERSPECIFICĂ A FAMILIEI CACTACEAE

1.1. IMPORTANȚA FAMILIEI CACTACEAE

Cactușii, întâlniți frecvent în colecțiile grădinilor botanice (11 pe teritoriul României) sau colecții private (peste 100) demonstrează interesul deosebit pe care îl reprezintă aceste specii de plante (FESZT și MIHALTE, 2009).

Cactușii sunt plante ornamentale, perene, cunoscute în principal pentru toleranța lor la secetă (plante xerofite). Aspectul lor gingaș sau masiv, forma globulară sau columnară, costată sau plată, prezența spinilor, sau absența acestora, însăși apariția florilor după un timp mai scurt, sau uneori lung, colorate în culori vii sau albe, dar în general întregul aspect al cactușilor le conferă acestora unicitatea în lumea vegetală.

Importanța economică la cactuși constă în principal în valoarea lor ornamentală.

Pe lângă valoarea ornamentală a cactușilor, unele specii prezintă și o importanță alimentară deosebită, constituind pentru popoarele conlocuitoare din Mexic, Peru și Chile resurse naturale de hrană. Specia *Opuntia ficus-indica* (L. Mill.) este una dintre cele mai cultivate specii de cactus, pentru producția de fructe, în ambele emisfere. Lipsa unor date statistice concludente permite doar aprecierea estimativă a suprafețelor cultivate cu *Opuntia ficus-indica* și anume 100000 de ha, fără a include suprafețele cultivate pentru consum propriu. Țara cu producția cea mai ridicată este Mexicul, care produce aproximativ 345000 tone, pe o suprafață de 70000 de ha (VALDEZ și colab., 1992).

Complexul de polizaharide care formează mucilagiul din țesuturile cactușilor este un component esențial, des utilizat în medicină, deoarece are proprietatea de a reține apa, având efecte similare poliacrilamidei, fiind des utilizat în diete.

Potrivit medicinei tradiționale din Mexic, foarte multe boli pot fi tratate cu ajutorul caldodiilor, a fructelor sau a altor părți ale cactușilor (au un conținut ridicat în bioamine, alcaliozii și aminoacizi).

Multe specii de cactus după ce sunt curățate de spini sunt folosite în hrana animalelor. Specia cu cea mai largă arie de consum ca și furaj este *Opuntia ficus indica* var. *inermis*.

1.2. DIVERSITATEA FAMILIEI CACTACEAE

Cactușii prezintă un interes aparte, datorită, caracteristicilor lor de plante metamorfozate, respectiv schimbări de formă, structură, și funcționalitate a organelor vegetative. Tulpina cactușilor este o tulpină asimilatoare, îndeplinind funcția de fotosinteză a frunzelor, cu ajutorul metabolismului CAM. Cactușii prezintă o diversitate în ceea ce privește forma tulpinii, pornind de la forma cilindrică până la aproape sferică sau plată (cladodiile). Aceste caractere, precum și arhitectura plantei au determinat diferite forme de viață, ca de exemplu formele arborescente, columnare, globulare, sau articulate (GIBSON și NOBEL, 1986; TERRAZAS-SALGADO și MAUSETH, 2002).

Cactușii sunt răspândiți pe toate regiunile continentului american, chiar și în pădurile tropicale. Cea mai mare diversitate este întâlnită în zonele aride și semi-aride, localizate între 35° latitudine N-S și la 5.000 m față de nivelul mării (OLDFIELD, 1997; ANDERSON, 2001). Ca și centre de origine sunt recunoscute următoarele centre: Mexicul și S-V Statelor Unite (1), Munții Anzi Centrali (Sudul Ecuadorului, Peru, Bolivia, Chile, N-V Argentinei) (2), Estul Braziliei (3) și ultimul centru este considerat S-V Braziliei, Paraguay, Uruguay, S-E Argentinei (OLDFIELD, 1997; BOYLE și ANDERSON, 2001).

Din punct de vedere a diversității speciilor, Mexicul este țara cu cele mai multe specii (586 de specii), urmată de țări precum Brazilia, Argentina, Bolivia, Statele Unite (cu peste 100 de specii de cactuși; ORTEGA-BAES și GODÍNEZ-ALVAREZ, 2006; GODÍNEZ-ALVAREZ și ORTEGA-BAES, 2007). Este important de remarcat că țările cu cea mai mare diversitate de specii, prezintă și o mare diversitate de specii endemice, astfel peste 50% dintre speciile endemice sunt concentrate în Mexic, Brazilia, Peru, Chile, Bolivia și Argentina.

Diversitatea familiei *Cactaceae* poate fi explicată prin intermediul factorilor de mediu, în principal temperatură și precipitații. Acești factori restricționează diferit distribuția speciilor de cactuși în funcție de forma lor de viață (MOURELLE și EZCURRA, 1996, 1997). Potrivit acestei ipoteze, diversitatea cea mai mare a cactușilor columnari este regăsită în acele zone în care numărul de zile cu temperaturi scăzute (temperaturi de îngheț) este redus (MOURELLE și EZCURRA, 1996).

Diversitatea cactușilor cu tulpini articulate crește odată cu creșterea mediei precipitațiilor, și a temperaturilor (MOURELLE și EZCURRA, 1996), prezentând o mare adaptabilitate la factorii de mediu.

Diversitatea cactușilor globulari crește odată cu creșterea mediei precipitațiilor, dar diversitatea acestor specii de cactuși este asociată și cu prezența substratului calcaros (MOURELLE și EZCURRA, 1996).

În afară de acești factori de mediu, s-a remarcat o corelație pozitivă directă între diversitatea speciilor și ariditatea zonei (GODÍNEZ-ALVAREZ și ORTEGA-BAES, 2007).

Marea diversitate a cactușilor în unele regiuni poate fi explicată și prin nivelul ridicat al regresului speciilor (GOETTSCHE și HERNÁNDEZ, 2006). Această regresie a speciilor se datorează heterogenității condițiilor de mediu (MOURELLE și EZCURRA, 1997). La formele columnare și articulate se înregistrează un număr mult mai scăzut de specii în regres față de formele globulare (MOURELLE și EZCURRA, 1997). Acest lucru este explicabil prin faptul că fructele și semințele cactușilor columnari sunt consumate de către păsări în principal, fapt ce asigură o dispersie mult mai mare. Semințele și fructele cactușilor globulari sunt consumate în principal de către reptile și insecte (GODÍNEZ-ALVAREZ, 2004), asigurând astfel doar o dispersie pasivă a speciilor respective.

1.2.1. Specii pe cale de dispariție ale familiei *Cactaceae*

Zonele aride și semi-aride au suferit modificări majore, odată cu expansiunea agriculturii (ZAK și colab., 2004).

Lista roșie a Uniunii Internaționale pentru Conservarea Naturii (the International Union for the Conservation of Nature; IUCN) include 104 specii de cactuși, adică 7% din totalul speciilor (IUCN, 2008).

La nivel global, Brazilia este țara cu cel mai mare număr de specii de cactuși pe cale de dispariție (18%), urmată de Mexic (10%), Ecuador (9%) și Peru (7%; ORTEGA-BAES și GODÍNEZ-ALVAREZ, 2006)

Potrivit IUCN (2008), următoarele specii prezintă cel mai mare risc de dispariție din biodiversitatea globală: *Acharagma aguirreanum*, *Ariocarpus kotschoubeyanus*, *Ariocarpus trigonus*, *Arrojadoa eriocaulis*, *Arthrocerus glaziovii*, *Aztekium hintonii*, *Brasilicereus markgrafii*, *Cipocereus bradei*, *Cipocereus laniflorus*, *Cipocereus pusilliflorus*, *Coleocephalocereus purpureus*, *Coryphantha clavata*, *Coryphantha maiz-tablasensis*, *Coryphantha pycnacantha*, *Coryphantha vogtherriana*, *Discocactus bahiensis*, *Discocactus horstii*, *Discocactus pseudoinsignis*, *Echinocactus grusonii*, *Espositoopsis dybowskii*, *Leptocereus quadricostatus*, *Mammillaria albicoma*, *Mammillaria albiflora*, *Mammillaria anniana*, *Mammillaria berkiana*, *Mammillaria duwei*, *Mammillaria glochidiata*, *Mammillaria guelzowiana*, *Mammillaria guillauminiana*, *Mammillaria herrerae*, *Mammillaria luethyi*,

Mammillaria marcosii, *Mammillaria pennispinosa*, *Mammillaria sanchez-mejoradae*, *Mammillaria schwarzii*, *Mammillaria zeilmanniana*, *Melocactus azureus*, *Melocactus conoideus*, *Melocactus deinacanthus*, *Melocactus ferreophilus*, *Melocactus glaucescens*, *Melocactus pachyacanthus*, *Melocactus paucispinus*, *Micranthocereus auriazureus*, *Micranthocereus polyanthus*, *Micranthocereus streckeri*, *Opuntia chaffeyi*, *Opuntia megarrhiza*, *Pilosocereus azulensis*, *Schlumbergera kautskyi*, *Tephrocactus bonnieae*, *Turbinicarpus alonsoi*, *Turbinicarpus gielsdorffianus*, *Turbinicarpus hoferi*, *Turbinicarpus mandragora*, *Turbinicarpus swoboda*, *Uebelmannia buiningii*.

1.3. CARACTERISTICILE MORFOLOGICE ALE PLANTELOR DE TIP „CACTACEU”

Morfologia și anatomia *Cactaceaelor* a fost studiată începând din sec al XVI-lea (METCALFE și CHALK, 1950; CONDE, 1975). BOOSFELD (1920) a fost primul care a corelat anatomia internă a cactușilor cu aspecte fenotipice.

Structura vegetativă distinctă a cactușilor este areola, considerată a fi omoloagă mugurelui axilar (BUXBAUM, 1950). Spinii, organele foliare, florile, organele reproductive, glochidele, inclusiv rădăcina se dezvoltă din areole (BOOKE, 1980).

La cactuși se cunosc două feluri de rădăcini, și anume, rădăcini subterane și rădăcini adventive. După modul de dezvoltare a ramificațiilor față de rădăcina principală, rădăcinile subterane pot fi de trei feluri, pivotante, rămuroase și fibroase sau fasciculate.

Rădăcina pivotantă este întâlnit la majoritatea plantelor de tip „cactaceu”, genurile: *Lophophora*, *Ariocarpus*, *Roseocactus*, *Copiaopa*, *Matucana*, *Neochilenia*, *Coryphantha*, *Pterocactus*, *Sulcorebutia*, la unele specii ale genului *Mammillaria*, precum și la majoritatea plantelor de tip columnar.

Rădăcinile rămuroase sunt întâlnite la plante de tip „cactaceu”, care trăiesc mai ales în zone cu vegetație bogată, unde suprafața solului este bogată în substanțe minerale, de exemplu genurile: *Notocactus*, *Parodia*, *Frailea*, *Cereus*, *Echinopsis*, *Rebutia*, *Aylosteria*, *Ferocactus*, *Opuntia*, *Astrophytum*, *Echinocereus*.

Rădăcinile fibroase sau fasciculate se întâlnesc în mod deosebit la plantele epifite din genurile: *Epiphyllum*, *Zygocactus*, *Rhipsalis*, *Selenicereus*.

La cactuși trecerea de la structura primară a rădăcinii la cea a tulpinii se face prin intermediul coletului. Plantele de tip „cactaceu” sunt plante cu colet scurt. În cadrul culturii *Cactaceaelor*, coletul reprezintă un organ destul de sensibil la factorii de mediu, în mod deosebit la umiditate.

Cactușii prezintă o diversitate în ceea ce privește forma tulpinii, pornind de la forma cilindrică până la aproape sferică.

Forma cilindrică cu frunze clasice și spini, ușor succulentă este specifică plantelor din genurile: *Peireskia*, *Peireskiopsis*, *Quiabentia*. Tulpinile cilindrice, succulente, cu frunze cilindrice, caduce sunt caracteristice plantelor din genurile: *Austrocyllindropuntia*, *Pterocactus*, *Marenopuntia*. Din forma cilindrică prin scurtare se obțin forme alungite, ovoide, articulate, caracteristice speciilor din genurile: *Tephrocactus*, *Cylindropuntia*, *Grusonia*. Aplatizarea acestora dau forma de cladodiu, specifică plantelor din genurile: *Opuntia*, *Nopalea*, *Consolea*.

Tot din forma cilindrică se obțin formele muchiate, cu 3-4, sau mai multe muchii, caracteristice genurilor: *Aporocactus*, *Mediocactus*, *Selenicereus*. O adâncire a muchiilor dă naștere așa numitelor forme cu aripi, caracteristice plantelor din grupa: *Hylocereae*, sau genurile *Disocactus*, *Cryptocereus*, *Rhipsalis*, *Epiphyllum*. O adâncire mai mult sau mai puțin a muchiilor plantelor cilindrice formează plantele cu coaste sau costate, formă caracteristică multor genuri de cactuși: *Cereus*, *Marginatocereus*, *Ritterocereus*, *Mitrocereus*.

Comprimarea formelor cilindrice cu coaste formează plantele globulare cu coaste (*Astrophytum asterias*). Coastele pot fi drepte, (la speciile din genurile: *Echinopsis*, *Pseudolobivia*, *Ferocactus*), spiralate, specii din genurile: *Lobivia*, *Mamatocactus*, *Mediolobivia*, sinuate la *Echinofossulocactus*. Divizarea coastelor în proeminențe de diferite mărimi și forme sunt caracteristice tuturor speciilor din genurile fără mamile.

Comprimarea formelor cilindrice cu coaste complet secționare conduce la plante globulare cu mamile, specifice plantelor din grupul *Mamillaria*. Forma mamilelor poate fi piramidală, cu 3-4, sau mai multe fețe, exemplu *Mamillaria polyedra*, *Mamillaria sempervivi*, piramidale cu muchii rotunjite la bază sau spre vârf, majoritatea speciilor genului *Mamillaria*, conice de diferite lungimi (*Dolichothele camptotricha*).

O formă deosebită, extrem de apreciată, este creșterea tulpinii în toate direcțiile prin lățirea fasciculului director al creșterii, obținându-se formele cristate, întâlnite la specii din genurile: *Espostopa*, *Cereus*, *Oroya*, *Lobivia*.

Speciile de *Cactaceae* din genurile *Peireskia*, *Rhodocactus*, prezintă frunze complete. Limbul este de formă ovată, cu nervațiuni penate, cu marginea întregă, groasă, cu aspect ceros, de culoare verde închis. La speciile subfamiliei *Opuntia*, *Austrocylindropuntia*, *Tephrocactus*, *Cylindropuntia*, apar frunze metamorfozate, de formă cilindrică, cu vârful mai mult sau mai puțin ascuțit, denumite frunze subulate, timpuriu caduce.

Spini provin din dezvoltarea anumitor părți din frunză, sau chiar din toată frunza, de aceea se mai numesc și spini foliari.

În general spini au o formă aciculară, fiind formați din picior, corp și vârf. În funcție de formele pe care le pot avea cele trei părți componente, se pot distinge următoarele forme de spini: spini cu piciorul mic, corp fusiform, aproape uniform ca grosime, vârf ascuțit (apar în mod normal la plantele epifite, în axile și pe tuburile florale), spini cu piciorul gros, corp tare, fusiform sau aproape uniform ca grosime, vârf ascuțit; spini cu picior gros, corp fusiform, vârful curbat în formă de baston, numiți și spini cu cârlig, (la *Hamatocactus hamatacanthus* și la foarte multe specii din genul *Ferocactus*, *Ancistrocactus*); spini cu picior foarte gros, corp scurt, conic, așa numiți spini conici (*Echinopsis eyriesii*); spini cu piciorul gros, corp mult lățit, plat, vârful ușor curbat, specific speciilor genului *Ferocactus*, *Echinofossulocactus*; spini cu piciorul mic, fusiformi, ascuțiți cu multiple ramificații laterale mai subțiri, așa numiți spini penați (la *Mamillaria pulmosa*, *Mamillaria ninspinosa*); spini subulți, îmbrăcați într-o vagină albă, mătăsoasă, detașabilă, (la genul *Cylindropuntia*); spini sub formă de fâșie subțire, papiracei.

Mărimea spinilor este extrem de variată, de la 2-3 mm lungime la peste 30 cm lungime, iar grosimea lor de la cea a firului de păr la 5-6 mm.

În funcție de locul pe care îl ocupă în cadrul areolei spini pot fi: spini marginali (radiali) dispuși în areolă pe circumferința exterioară și spini centrali, dispuși în centrul areolei sau pe o circumferință în jurul centrului areolei.

1.4. CARACTERISTICILE MORFOLOGICE ALE FLORILOR DE TIP „CACTACEU”

La cactuși, florile sunt sesile și solitare, de obicei o areolă produce o floare, care ajută la gruparea fructelor pe plantă (RAMIREZ și AGUILAR, 1995). Există și cazuri când mai multe flori provin dintr-o singură areolă, exemplu *Pterocereus foetidus* (BRAVO-HOLLIS, 1978). În schimb la *Myrtillocactus* câteva areole converg împreună la formarea unei inflorescențe (BUXBAUM, 1950).

La familia *Cactaceae* doar florile de *Peireskia* și *Rhodocactus* prezintă peduncul, în rest la toate celelalte genuri acesta lipsește, florile fiind sesile.

Receptaculul, sau axul florii, reprezintă partea tulpinală pe care sunt inserate sepale, petale, stamine și carpele. Structura și diversitatea receptaculului determină aspectul florii, care la cactuși reprezintă una dintre caracteristicile morfologice principale în determinarea și

încadrarea speciilor în genuri. Receptaculul poate fi sub formă: de cupă, genurile *Echinopsis*, *Pseudolobivia*, *Eriocereus*; cilindric, genurile *Cleistocactus*, *Tacinga*; conic, sau cuneat, genurile *Rebutia*, *Aylosteria*, *Mediolobivia*; obtuz, genul *Cereus*; trunecat, genurile *Oroya*, *Marginatocereus*; rotund, la majoritatea speciilor de cactuși.

La *Cactaceae* găsim o largă paletă coloristică a petalelor, de la incolor la alb, toate nuanțele de galben până la portocaliu, toate nuanțele de roșu până la roșu închis cu tente de albastru, de la ocră la maro închis. De asemenea culorile pot fi uniforme, nuanțate, sau satinat, în pete, sau în linii.

De regulă, la *Cactaceae* floarea are un singur rând de petale, dar sunt și specii la care numărul petalelor este foarte mare, așa numitele flori bătute (*Mamillaria wilcoxii*).

Androceul este format de totalitatea staminelor dintr-o floare. La cactuși staminele sunt aranjate în formă de spirală și sunt tigmotropice, adică se mișcă dacă sunt atinse. Numărul de grăunciori de polen variază de la 160000 la *Opuntia rastrera* (MANDUJANO și colab., 1996) la 330000 la florile masculine de *Opuntia robusta* (DEL CASTILLO, 1988). Numărul de ovule per floare la genul *Opuntia* variază de la 150 la 400 (ROSAS și PIMIANTA, 1986; NERD și MIZRAHI, 1997) astfel numărul de grăunciori de polen, care poate fecunda un ovul este între 400 și 800. Proporția este mică comparativ cu florile anemofile care produc între 500000 și 3000000 de grăunciori de polen pentru un ovul și între 5000 și 100000 de grăunciori de polen pentru un ovul la florile entomofile (LINSKENS, 1983). Proporții mici grăunciori de polen-ovule, se întâlnesc și la următoarele specii de cactuși columnari: *Pilosocereus moritzians*, *Pilosocereus lanuginosus*, *Stenocereus griseus*, *Subpilocereus horispinus*, *Stenocereus repşius*, cu un număr cuprins între 300 și 1050 (NASSAR și colab., 1997).

Gineceul reprezintă totalitatea carpelurilor dintr-o floare, constituind organul feminin de reproducere. Carpela este constituită din ovar, stil și stigmat. Stilul reprezintă o prelungire de obicei subțire și cilindrică a ovarului, foarte variată sub aspect morfologic și care se termină cu stigmatul. Lungimea stilului constituie un caracter constatat pentru fiecare specie. Anumite specii de cactuși, prezintă un stil foarte lung, uneori depășind corola (*Cleistocactus*, *Loxanthocereus*, *Oreocereus*, *Seticereus*, *Aylosteria*, *Cochemia*, plantele epifite). Florile *Cactaceae*-lor prezintă un singur stil rezultat din sudarea tuturor stilurilor. Stigmatul reprezintă extremitatea stilului și are o suprafață mărită, papiloasă, secretoare, care favorizează reținerea și germinarea grăunciorilor de polen. Forma stigmatului este filiformă, liberă. La *Cactaceae*, numărul stigmatelor poate fi între 3 și 7, sau mai multe, mai rar unu sau două.

O caracteristică fundamentală a florii de cactus este faptul că ovarul este inferior, doar câteva specii de *Pereskia* prezintă ovar superior, (BRAVO-HOLLIS, 1978; GIBSON și NOBEL, 1986).

Numărul de ovule per floare variază de la 150 la 400 la *Opuntia ficus indica* (ROSAS și PIMIANTA, 1986; WIESS și colab., 1993), de la 388 (florile hermafrodite) la 406 (florile femele) la *Opuntia robusta* (DEL CASTILLO, 1988), peste 1000 la *Stenocereus queretaroensis* (PIMIANTA-BARRIOS și NOBEL, 1995), și 7200 la *Hylocereus undatus* (NERD și MIZRAHI, 1997).

Observațiile embriologice efectuate pe *Opuntia* și *Stenocerreus* relevă faptul că majoritatea caracterelor embriologice ale cactușilor sunt primitive și anume: poziția inferioară a ovarului, patru microspori pe anteră, ovulele prezintă două tegumente, un singur spor funcțional, numărul mare de ovule pe ovar, (GRAYUM, 1991; ORTEGA, 1993).

Majoritatea speciilor de cactuși înfloresc ziua, fiind specii diurne, dar există și specii nocturne. Durata perioadei de înflorire este în funcție de specie și de condițiile de mediu. De regulă florile cactușilor sunt efemere, se deschid dimineața câteva ore și spre prânz se închid.

În ceea ce privește timpul de înflorire acesta este la fel de variat, având în vedere atât perioada necesară maturizării plantei în condiții normale, cât și condițiile pedo-climatice mai

mult sau mai puțin favorabile. În general majoritatea cactușilor, în natură înfloresc la 3-5 ani de la răsărire, iar plantele columnare după 8-10 ani.

Fructele pot fi dehiscente sau indehiscente. Mărimea fructelor poate fi de la câțiva mm, conținând una sau două semințe lipite, ușor detașabile, ca la *Rhipsalis*, *Lepismium*, sau până la peste 5 cm în diametru conținând sute de semințe. Fructele globular ovate pot depăși ușor 7 cm lungime. Fructele în formă de bacă pot fi scurte de până la 1 cm lungime și groase sau foarte lungi, 3-4 cm, ușor curbate caracteristice speciilor de *Mamillaria*.

Forma semințelor la *Cactaceae* poate fi foarte variată, sferică, ovoidală, prismatică, reniformă, lenticulară. Mărimea semințelor variază de asemenea în limite destul de largi. De la semințele de *Parodia*, *Strombocactus*, extrem de mici, ca praful, până la 3-4 mm la speciile de *Astrophytum*, *Pachycereus*, sau 5-6 mm la speciile de *Opuntia*. Culoarea semințelor de cactus variază de la alb la nuanțe de galben, toate nuanțele de maro până la maro roșcat, sau negre. Tegumentul poate fi lucios sau mat. Numărul semințelor dintr-un fruct de asemenea variază în limite destul de largi, de la două în fructele de *Rhipsalis* la sute de semințe în fructele multor specii.

Testa seminței de cactus este puternic cutinizată prezentând ornamentații specifice pentru fiecare specie. Pe aceste caractere specifice se bazează în prezent determinarea speciilor de *Cactaceae*. Microfotografiile ornamentațiilor semințelor constituie principala și cea mai sigură metodă de determinare a speciilor și varietăților familiei *Cactaceae*.

1.5. CARACTERISTICILE GENETICE ȘI DE BIOLOGIE ALE REPRODUCERII ȘI ÎNMULȚIRII FAMILIEI CACTACEAE

Studiile referitoare la polenizarea cactușilor datează de mai bine de un secol (MANDUJANO și colab., 1996), dar cu toate acestea multe genuri de *Cactaceae* nu au fost studiate deloc.

Alogamia este un fenomen comun la majoritatea speciilor de cactuși. Din cele 55 de genuri studiate de ROSS (1981), s-a obținut semințe prin autopolenizare doar la 11 genuri, la celelalte 44 de genuri doar prin polenizări încrucișate. Alogamia prezintă un avantaj pe termen lung pentru familia *Cactaceae*, întrucât populațiile își pot menține diversitatea genetică la un nivel ridicat (WYATT 1983; CHARLESWORTH și CHARLESWORTH, 1987).

Autopolenizarea, la familia *Cactaceae* este prezentă doar la câteva specii: *Ariocarpus fissuratus*, *Echinocactus platyacanthus*, *Ferocactus cylindraceus*, *Ferocactus wislizenii*, *Grusonia bradtiana*, *Hylocereus polyrhizus*, *Hylocereus undatus*, *Melocactus paucispinus*, *Opuntia phaeacantha*, *Opuntia polyacantha*, *Pilosocereus moritzianus*, *Pilosocereus royenii*, *Selenicereus megalanthus* (RAMAWAT, 2010).

Majoritatea speciilor de cactuși sunt hermafrodite, excepție genurile *Echinocereus*, *Mamillaria*, *Neobuxbaumia*, *Opuntia*, *Pachycereus*, *Selenicereus* (DEL CASTILLO, 1994; FLEMING și colab., 1994), care sunt unisexuate.

Dioicia a fost remarcată la specii precum *Echinocereus coccineus*, *Opuntia robusta*, *Opuntia stenopetala* (FLEMING și HOLLAND, 1998); trioicia a fost semnalată la *Opuntia robusta* și *Pachycereus pringle*.

Dintre mecanismele fiziologice care asigură speciilor de cactuși mecanismul de polenizare preferat se întâlnesc următoarele:

- heterostilia (fenomen fiziologic manifestat printr-un ritm de creștere a stilului mult mai rapid decât a anterelor, scoțând stigmatul deasupra anterelor) întâlnit la următoarele specii: *Ariocarpus fissuratus* (MARTÍNEZ-PERALTA, 2007), *Opuntia imbricata* (MCFARLAND și colab., 1989), *Pilosocereus lanuginosus*, *P. Moritzianus* (NASSAR și colab., 1997), *Stenocereus queretaroensis* (IBARRA-CERDEÑA și colab. 2005), *Melocactus*, *Nopalea* (ANDERSON, 2001), *Peniocereus striatus* și *P. greggii* (RAGUSO și colab. 2003);

- protandria (fenomen fiziologic prin care maturizarea polenului unei flori se realizează înainte maturizării stigmatului florii respective) întâlnit la următoarele specii: *Hylocereus spp.* (PIMIENTA-BARRIOS și DEL CASTILLO, 2002), *Pilosocereus royenii* (RIVERA-MARCHAND și ACKERMAN, 2006), *O. rastrera*, *Grusonia bradtiana*, *O. microdasys*, *E. platyacanthus* (DEL CASTILLO, 1994).

La speciile alogame, cel mai eficient mijloc de evitare a autopolenizării, îl constituie mijloacele genetice de incompatibilitate (ARDELEAN, 1994). La cactuși, incompatibilitatea gametofitică este frecvent întâlnită, fiind provocată atât de genotipul polenului, cât și de genotipul stigmatului. Mulți autori asociază prezența genei *S*, responsabilă de incompatibilitatea gametofitică, cu obținerea de fructe fără semințe, în experiențe de autopolenizare la următoarele specii: *Ferocactus cylindraceus* (MCINTOSH, 2002), *Echinomastus erectocentrus* (JOHNSON, 1992), *Stenocereus eruca* (CLARK-TAPIA și MOLINA-FREANER, 2004), *Pereskia guamacho* (NASSAR și colab., 2002), *Trichocereus pasacana* (BADANO și SCHLUMPBERGER, 2001), *Astrophytum asterias*, (STRONG și WILLIAMSON, 2007), *Neobuxbaumia mezcalensis* și *N. macrocephala*, (VALIENTE-BANUET și colab., 2002), *Hylocereus polyrhizus* (LICHTENZVEIG și colab., 2000), *Mammillaria grahamii* (BOWERS, 2002), *Lophocereus schottii* (FLEMING și HOLLAND, 1998; HOLLAND și FLEMING, 1999), *Stenocereus stellatus* (CASAS și colab. 1999), *S. eruca* (CLARK-TAPIA și MOLINA-FREANER, 2004), *S. queretaroensis* (IBARRA-CERDEÑA și colab., 2005), *Pterocereus gaumeri* (MÉNDEZ și colab., 2005), *Escontria chiotilla* (OAXACA-VILLA și colab. 2006).

Protandria, heterostilia, incompatibilitatea gametofitică, sunt și factori de care depinde succesul polenizării străine, indiferent de modul în care se realizează, la cactuși fiind plante care se polenizează anemofil, entomofil sau ornitofil (RAMAWAT, 2010).

1.5.1. Caracteristici genetice ale familiei *Cactaceae*

Numărul somatic de cromozomi la speciile familiei *Cactaceae*, este $x=11$, majoritatea speciilor fiind diploide, dar și poliploidia este un fenomen des întâlnit la cactuși.

Efectuarea analizei cromozomilor la 23 de taxoni (genul *Echinocereus*), COTA și PHILBRICK (1994) au constatat că aceștia sunt foarte mici 2-5 μm și uniformi morfologic, cei mai mulți metacentrici, prezentând câteva constricții secundare.

Studiul a 11 specii și 5 varietăți poliploide de *Echinocereus* (COTA și WALLACE, 1995) relevă o variabilitate interspecifică și intraspecifică, în ceea ce privește lungimea genomului, lungimea cromozomilor, numărul de sateliți, cariotipul. De asemenea la varietățile poliploide lungimea cromozomilor este mai mare decât la varietățile diploide.

Majoritatea autorilor au raportat faptul că la speciile din familia *Cactaceae*, lungimea cromozomilor prometafazici poate ajunge la 8 μm , lungimea cromozomilor metafazici fiind cuprinsă între 1-5 (5) μm . Majoritatea cromozomilor sunt metacentrici. Studiul cromozomilor la *Rebutia violaciflora* a relevat existența unor diferențe morfologice între cromozomii aflați în metafaza mitozei. Majoritatea cromozomilor sunt de tip metacentric, având centromerul situat în regiunea mediană a cromozomului. Pe lângă cromozomii somatici, s-a remarcat prezența unor mici fragmente heterocromatice, intens colorate cu reactivul Schiff, care ar putea reprezenta cromozomi accesorii (cromozomi de tip B), nesemnalați la alte specii de *Cactaceae*, (CORNEANU, 1984). Prezența în număr mare a cromozomilor accesorii, este asociată de obicei cu instalarea unei sterilități.

CAPITOLUL II

MATERIALUL BIOLOGIC ȘI METODELE DE LUCRU

2.1. MATERIALUL BIOLOGIC

Materialul biologic folosit pentru cercetări a fost constituit din 247 de specii aparținând la patru genuri de cactuși din subgrupa *Chaetolobiviae*: *Mediolobivia*, *Aylosteria*, *Rebutia* și *Sulcorebutia* cu diferite proveniențe.

Genul *Mediolobivia* (Backbg.) reunește plante globulare, sau scurt cilindrice, care au 5-8 cm înălțime, 2-3 cm diametru, de culoare verde cu nuanțe de roșu, violet, albastru sau maroniu, bogat lăstărite, formând mici colonii. Coastele sunt în număr de 4-13, mici sau ușor înălțate, în general complet dizolvate în proeminențe conice; areolele sunt mici, galbene, albe sau maronii; spinii marginali (radiali) sunt în număr de 9-20, cu o lungime de 2-10 mm, albi, galbeni, maro și cenușii. Spinii centrali de regulă, lipsesc la acest gen. Floarea are o lungime de 2-4 cm, 3-4 cm în diametru, de culoare galbenă sau nuanțe de galben, uneori roșie.

Genul *Aylosteria* (Backbg.) cuprinde specii globulare, sau scurt cilindrice, cu un diametru de 2,5-5 cm, peste 10 cm înălțime. Corpul are culoarea verde sau nuanțe de verde, sunt bogat lăstărite și formează colonii. Crestele sunt în număr de 11-12, complet dizolvate în proeminențe mici, conice, uneori așezate în spirală; areolele sunt mici, acoperite de pâslă albă, galbenă sau maronie. Spinii marginali sunt în număr de peste 15, uneori 50, au 5 mm lungime, dreپți, subțiri, albicioși sau galbeni cu vârful maroniu. Florile sunt albe, roz, portocalii sau roșii.

Genul *Rebutia* (Backbg.) reunește plante globulare, sau cilindrice, cu o înălțime de 3-6 cm, 3-8 cm în diametru, de culoare verde sau nuanțe de verde, bogat lăstărite. Coastele sunt complet dizolvate în proeminențe, plasate în spirală pe 16-30 de rânduri; areolele sunt mici, albe, galbene, sau maronii. Spinii marginali sunt în număr de 12-30 sau mai mulți, 0,5-3 cm lungime, albicioși, sticloși, maro gălbui, sau cenușii. Florile sunt mari (3-5 cm diametru), portocalii, uneori galbene, sau roșii; tubul floral are formă de cornet deschis cu solzi.

Genul *Sulcorebutia* (Backbg.) cuprinde specii de cactuși cu tulpini plat globulare, de talie mică, 1-3 cm înălțime, 2-6 cm diametru, lăstărite, de culoare verde închis, cenușiu sau maroniu cu nuanțe violet. Coastele sunt în număr de 11-20, complet dizolvate în proeminențe conice, romboidale, de aproximativ 1 cm lungime și 0,5 cm lățime. Areolele sunt liniare sau eliptice, aproximativ 5mm lungime, albe, crem sau cenușiu. Spinii marginali sunt în număr de 12-20, 6-20 mm lungime, așezați în pieptene, aliniați stânga-dreapta, subțiri, curbați pe plantă, albi, galbeni, maronii, sau negri. Floarea are 2,5-4 cm lungime, cu petale galbene, roșii sau nuanțe de galben sau roșu. Fructele sunt globulare, 3-10 mm diametru.

Din totalul genotipurilor luate în studiu, 49 de specii aparțin colecției Grădinii Botanice Cluj-Napoca, 60 specii provin din schimburile de sămânță practicate între grădinile botanice din țară și din afara țării (15 genotipuri din Franța; 12 genotipuri din Germania; 3 genotipuri din Cehia; 21 genotipuri din Austria; 9 genotipuri din Slovacia), 118 specii provin din semințe cumpărate de la firma particulară Chrudimsky Kaktusar (Cehia), 20 de specii provin din colecția "Coromandel Cacti", Noua Zeelandă.

2.2. Metode de determinare a apropierii filogenetice la genotipurile studiate

2.2.1.. Metoda sistematică (taxonomică)

Această metodă se bazează pe clasificările botanice ale familiilor, genurilor și speciilor, clasificări făcute în principal pe baza aspectului fenotipic al diferitelor caractere observate și măsurate la plante. Printre caracteristicile morfologice ale plantelor, ce trebuie luate în

considerare sunt: distribuția geografică, momentul înfloritului, culoarea florilor, însușirile fructelor etc.

La cactuși în afară de aceste caractere în descrierea speciilor sunt analizate și următoarele: forma corpului plantei, numărul, forma, lungimea și culoarea spinilor, prezența/absența spinilor centrali, numărul și culoarea areolelor, prezența/absența creștelor, numărul și forma creștelor.

2.2.2. Metoda RAPD Random Amplified Polymorphic (ADN polimorfic amplificat la întâmplare)

Tehnica RAPD a fost pentru prima dată descrisă de către WILLIAMS și colab. (1990). Ea se bazează pe polimorfismul formelor parentale la nivel alelic în ceea ce privește prezența sau absența unor produși de amplificare, în urma folosirii unui singur primer decamer oligonucleotidic ce se leagă în mod randomizat în genom, acolo unde găsește omologie.

În general, fiecare primer va determina amplificarea unor secvențe din mai multe locusuri ale genomului, metoda constituind un mod eficient de investigare a polimorfismelor ADN între indivizi (TINGEY și DEL TUFO, 1993).

Ceea ce s-a urmărit, în tehnica RAPD, a fost determinarea profilului benzilor pe care produșii de amplificare îl formează în gelul de electroforeză. Amplificarea cu aceeași amorsă, realizată în mai multe genomuri diferite, poate releva diferențe ale profilului de benzi în gel la examinarea electroforetică a produșilor de reacție. Aceste diferențe pot fi datorate absenței unor benzi sau prezenței unor benzi suplimentare, față de profilul cu care se face comparația.

Materialul vegetal a fost constituit din 93 de probe cu diferite proveniențe. O parte din materialul vegetal a provenit din colecția Grădinii Botanice „Alexandru Borza” Cluj-Napoca, o altă parte din cadrul colecției private „Coromandel Cacti” Noua Zeelandă. De la aceste genotipuri, s-au recoltat lăstari tineri care au fost imersați imediat în azot lichid, după care au fost transferați în congelator, în vederea păstrării, până în momentul în care s-a realizat extracția de ADN.

Chiar dacă țesuturile cactușilor conțin o cantitate mare de polifenoli și polizaharide, care co-precipită împreună cu ADN-ul și afectează secvența nucleotidică în amplificarea PCR, protocolul de extracție ADN a lui LODHI și colaboratorii (1994), îmbunătățit de către POP și colab. (2004) a fost eficient și a redus efectul acestor contaminați.

2.3. METODE DE EVIDENȚIERE A CROMOZOMILOR ÎN MITOZĂ

În prezentul studiu s-a folosit metoda Feulgen și metoda carmin-acetică. Materialul vegetal a fost reprezentat de rădăcini embrionare, prelevate de la semințe recent germinate și de rădăcini adventive, recoltate direct de pe planta mamă.

Conform literaturii de specialitate (BRIONES și colab., 2004; COTA și PHILBRICK, 1994; COTA și WALLANCE, 1995; LAS PEÑAS, 2008; NEGRÓN-ORTIZ, 2007), rădăcinile adventive au fost recoltate între ora 7.00 și 9.00.

Numărarea cromozomilor s-a efectuat în cel puțin 10 celule, iar pe genotip s-au realizat două preparate, uneori trei, în funcție de cantitatea de material vegetal disponibilă.

Efectuarea de preparate microscopice cu ajutorul metodei „squash” a evidențiat imagini mai puțin clare datorită suprapunerii celulelor. De aceea s-a recurs la efectuarea preparatelor prin intermediul secționării seriate cu ajutorul unui microtom rotativ pe gheață. Efectuarea preparatelor s-a realizat la Disciplina de Anatomie Patologică, Diagnostic Necropsic și Medicină Legală, USAMV Cluj.

Toate speciile la care s-a investigat numărul de cromozomi în mitoză au aparținut colecției Grădinii Botanice „Alexandru Borza” Cluj-Napoca.

2.4. METODE DE DETERMINARE A CAPACITĂȚII DE GERMINARE A POLENULUI

Cunoașterea capacității de germinare a polenului este importantă pentru că permite cunoașterea valorii unui genotip ca polenizator în combinații interfertile, precum și pentru hibridări artificiale, când polenul trebuie să aibă o germinabilitate de min 30% pentru a asigura succesul polenizării (ARDELEAN, 1994).

Testarea viabilității polenului în prezentul studiu s-a realizat prin intermediul metodei de colorare cu iod în iodură de potasiu. Polenul fertil, în prezența colorantului s-au colorat în negru, în timp ce polenul steril a rămas incolor, sau slab colorat.

Anterele au fost recoltate în faza de buton floral avansat de la 15 genotipuri, din cadrul colecției Grădinii Botanice “Alexandru Borza”, Cluj-Napoca. Anterele au fost fixate în amestec Carnoy (alcool etilic și acid acetic glacial, 3:1).

2.5. PROVOCAREA VARIABILITĂȚII ARTIFICIALE PRIN HIBRIDARE, UTILIZÂND GENOTIPURILE DIN COLECȚIA GRĂDINII BOTANICE „ALEXANDRU BORZA” CLUJ-NAPOCA

2.5.1. Hibridarea interspecifică și intergenerică

Hibridarea interspecifică constituie o metodă prin care se poate obține o foarte amplă variabilitate, utilizată în ameliorare încă de la sfârșitul secolului al XIX-lea. Face parte din categoria hibridărilor îndepărtate datorită faptului că gradul de înrudire dintre genitori este mult mai redus decât în cazul hibridărilor intraspecifice. Indivizii pot aparține unor specii diferite (hibridare interspecifică), ale aceluiași gen, sau între genuri diferite ale aceleiași familii (hibridare intergenerică).

Modelul de hibridare folosit în prezentul studiu a fost hibridarea ciclică, care constă în încrucișarea unui părinte, folosit de obicei ca tată cu mai mulți genitori (folosiți ca mamă).

Pentru a izola florile polenizate artificial, de polenizare cu polen străin s-a folosit izolatoare individuale confecționate din hârtie lipicioasă pentru fiecare floare în parte și fire de ață divers colorate, pentru a putea face diferența între fructele hibride și celelalte fructe.

Diferențele dintre caracterele greutatea fructelor, numărul de semințe/fruct, greutatea semințelor, au fost analizate statistic folosind ANOVA, testul “t” considerând ca martor media experienței. De asemenea a fost calculat și coeficientul de variabilitate (CV %).

2.6. METODE DE DETERMINARE A GERMINAȚIEI SEMINȚELOR

Înmulțirea prin semințe este o metodă de reproducere cu o importanță deosebită, deoarece menține diversitatea genetică a diferitelor populații de cactuși. Cu toate acestea, studiile privind viabilitatea, longevitatea semințelor, precum și aplicarea unor tehnici de îmbunătățire a germinației sunt relativ puține (ROJAS-AREHCHIGA și VAHZQUEZ-YANES, 2000).

Pe baza acestor considerente și datorită faptului că în experiență germinarea semințelor pe un anumit substrat a fost relativ mică, s-a inițiat un alt experiment, în care s-a studiat facultatea germinativă și capacitatea germinativă a semințelor în condiții de laborator. În acest scop, s-au utilizat diferite variante de tratamente cu fitohormoni, aspecte mai puțin studiate la cactuși (ORTEGA-BAESA și ROJAS-ARÉCHIGAB, 2007). Germinația a fost studiată sub influența a cinci variante de tratament. Astfel V1-apă, V2-soluție apoasă concentrată care conține ca și substanțe activă sodiu, V3-soluție apoasă concentrată, cu un conținut în auxine (ANA) de 9%, V4-0,1 mM de acid salicilic tehnic, V5-0,1 mM de acid acetyl salicilic tehnic.

CAPITOLUL III

REZULTATE ȘI DISCUȚII

3.1. REZULTATE OBȚINUTE PRIVIND VARIABILITATEA EXISTENTĂ LA CACTUȘI, PRIN APLICAREA METODELOR DE DETERMINARE A APROPIERII FILOGENETICE

În prezentul studiu au fost analizate cu ajutorul metodei taxonomice (sistematice) 247 de specii și cultivari (genotipuri) de cactuși. Cele 247 de genotipuri au aparținut, în exclusivitate, genurilor: *Rebutia*, *Mediolobivia*, *Aylostera* și *Sulcorebutia*. În general, la speciile luate în studiu specii centrale au lipsit, sau au fost prezenți într-un număr foarte redus (1-2).

Analiza exhaustivă a caracteristicilor plantelor și aplicarea metodelor taxonomice de diferențiere a genotipurilor de cactuși provenite din colecții, a evidențiat o variabilitate relativ redusă a materialului biologic, în funcție de gen și specie, dar și în funcție de caracterul analizat.

Diferențele dintre principalele caractere ale plantelor la speciile genurilor *Rebutia*, *Aylostera*, *Sulcorebutia* și *Mediolobivia* (clasificate după sistemul BACKEBERG) sunt destul de mici, de aceea tendința de încadrare a acestor specii într-un singur gen este oarecum justificată.

Rezultatele obținute ilustrează probabil și divergențele de opinii dintre botaniști-sistematicieni, controversale care apar privind încadrarea sistematică a speciilor din genurile respective, precum și clasificarea lor după sistemul BACKEBERG (BACKEBERG, 1958-1962; 1966; 1968-1977).

3.2. REZULTATE OBȚINUTE PRIVIND VARIABILITATEA EXISTENTĂ LA CACTUȘI, PRIN STUDIUL PRINCIPALELOR CARACTERISTICI ALE SEMINTELOR, LA GENURILE *MEDILOBIVIA*, *REBUTIA*, *AYLOSTERA* ȘI *SULCOREBUTIA*

Chiar dacă, în procesul de înmulțire a cactușilor, germinația semințelor are un rol major, studii consistente și relevante privind germinația semințelor sunt relativ puține, majoritatea lor fiind recente (NOBEL, 2002).

În cadrul celor 19 specii studiate, aparținând genului *Aylostera*, greutatea semințelor a avut valori diferite, media experimentului fiind de 2,24 mg, iar amplitudinea de variație fiind cuprinsă între 0,83 mg la *A. buiningiana* și 4,17 mg la *A. theresae* (Tabelul 3.1.).

Pe baza coeficienților de variabilitate se poate afirma că variabilitatea caracterului greutatea semințelor a fost medie, doar *A. archibuiningiana* a prezentat o variabilitate mare (CV=22,00%).

Procentul de germinare la semințele genotipurilor genului *Aylostera* a avut valori diferite, cuprinse între 0,0% (*A. fiebrigii* f. SE 82, *A. fusca*, *A. kupperiana*, *A. suptuthiana*, *A. vulpine*) și 70,0% (*A. cintiensis* f. SL 36 B).

Potențiali genitori pentru o germinare bună a semințelor (problematică dificilă la cactuși) pot fi considerate speciile: *A. cintiensis* f. SL 36 B, *A. mamiliosa* var. *australis*, *A. aureispina*, *A. buiningiana*, *A. archibuiningiana*, *A. fiebrigii* f. SE 85, *A. heliosa* f. R 314, *A. nivosa*.

Greutatea semințelor la genotipurile luate în studiu în cadrul genului *Rebutia* a avut valori diferite, amplitudinea de variație fiind cuprinsă între 0,80 mg la *R. perplexa* și 2,38 mg la *R. wessneriana*. Media experienței pentru cele șase genotipuri studiate a fost de 1,66 mg.

Procentul de germinare la semințele genului *Rebutia* a avut valori cuprinse între 0,0% (*R. wessneriana*) și 64,0% (*R. perplexa*). Germinație bună au prezentat și speciile: *R. vallegrandensis*, *R. senilis* f. Aqua-Negro.

La genotipurile genului *Mediobolobivia*, comparativ cu media experienței (2,71 mg), valori semnificative, asigurate statistic pentru greutatea semințelor, au fost înregistrate la următoarele specii: *M. brachyantha* (3,33 mg), *M. einsteinii* (3,0 mg), *M. peterseimii* f. LF 56 (3,33 mg), *M. pygmaea* f. LF 51 A (6,15 mg), *M. pygmaea* f. SE 102 (3,64 mg), *M. pygmaea* f. VS 276 (3,64 mg), *M. pygmaea* var. *iscayachersis* (4,0 mg), *M. ritteri* (5,0 mg).

Tabelul 3.1./Table 3.1.

Greutatea semințelor la speciile genului *Aylostera*, semnificația diferențelor*, coeficientul de variabilitate și procentul de germinare
The seeds weight of Aylostera genus, significance values, coefficient of variability (CV%) and germination percentage of seeds*

Nr.	Genotipul <i>Genotype</i>	Nr. Semințe <i>Seeds no.</i>	Greutatea semințelor <i>Seeds weight</i>			Proc. germinare (%) <i>Germination percentage</i>
			Media ± s _x (mg) <i>Mean ± s_x (mg)</i>	Semnif. <i>Signif</i>	CV%	
1.	<i>A. albipilosa</i>	11	2,73 ± 0,05	***	6,6	9,1
2.	<i>A. archibuiningiana</i>	24	0,83 ± 0,04	ooo	22,0	25,0
3.	<i>A. aureispina</i>	23	1,74 ± 0,03	ooo	8,5	43,5
4.	<i>A. buiningiana</i>	24	0,83 ± 0,03	ooo	16,1	29,2
5.	<i>A. cintiensis</i> f. SE 94	13	2,31 ± 0,04	-	6,7	7,7
6.	<i>A. cintiensis</i> f. SL 36 B	10	2,00 ± 0,12	-	19,3	70,0
7.	<i>A. fiebrigii</i> f. SE 82	14	1,43 ± 0,05	ooo	13,0	0,0
8.	<i>A. fiebrigii</i> f. SE 85	11	3,64 ± 0,04	***	3,7	27,3
9.	<i>A. fusca</i>	13	3,85 ± 0,05	***	4,6	0,0
10.	<i>A. heliosa</i> var. <i>condorensis</i>	19	1,05 ± 0,04	ooo	17,6	5,3
11.	<i>A. heliosa</i> f. R 314	12	2,50 ± 0,07	*	9,8	25,0
12.	<i>A. kupperiana</i>	13	1,54 ± 0,06	ooo	14,2	0,0
13.	<i>A. mamillosa</i> var. <i>australis</i>	14	2,14 ± 0,06	ooo	10,3	50,0
14.	<i>A. nivosa</i>	10	4,00 ± 0,10	***	8,2	20,0
15.	<i>A. robustispina</i>	12	2,50 ± 0,06	*	8,9	8,3
16.	<i>A. sanguinea</i>	14	1,43 ± 0,05	ooo	13,0	7,1
17.	<i>A. suptuthiana</i>	15	2,00 ± 0,05	oo	10,5	0,0
18.	<i>A. theresae</i>	12	4,17 ± 0,04	***	3,7	16,7
19.	<i>A. vulpina</i>	16	1,88 ± 0,06	ooo	13,2	0,0
Media experimentului <i>Mean of experiment (Control)</i>		15	2,24 ± 0,06	-	-	18,1
1.	<i>R. laui</i>	13	1,54 ± 0,06	-1,4	-	14,2
2.	<i>R. perplexa</i>	25	0,80 ± 0,04	-12,0	ooo	24,5
3.	<i>R. senilis</i> f. Aqua-Negro	18	1,18 ± 0,06	-5,7	ooo	21,2
4.	<i>R. senilis</i> f. Santa Barbara	16	1,88 ± 0,06	2,5	*	13,2
5.	<i>R. vallegrandensis</i>	32	2,17 ± 0,04	7,0	***	9,5
6.	<i>R. wessneriana</i>	21	2,38 ± 0,07	8,1	***	12,9
Media experimentului <i>Mean of experiment (Control)</i>		16	1,66 ± 0,06	-	-	21,7
1.	<i>M. atrovirens</i> var. <i>huasiensis</i>	21	1,43 ± 0,05	ooo	15,7	0,0
2.	<i>M. brachyantha</i>	15	3,33 ± 0,08	***	9,2	6,7
3.	<i>M. cincinnata</i>	24	0,83 ± 0,04	ooo	22,0	0,0
4.	<i>M. diersiana</i> f. WR 631	12	2,50 ± 0,06	-	8,8	25,0
5.	<i>M. einsteinii</i>	10	3,00 ± 0,07	*	7,2	20,0
6.	<i>M. haagei</i> f. SE 60	30	1,67 ± 0,05	ooo	17,1	0,0
7.	<i>M. haagei</i> v. <i>elegantula</i> f. SE 56	18	1,76 ± 0,06	ooo	14,4	50,0
8.	<i>M. orurensis</i> f. SE 135	23	2,17 ± 0,06	ooo	13,1	13,0
9.	<i>M. peterseimii</i> f. LF 56	12	3,33 ± 0,06	***	6,7	8,3
10.	<i>M. pseudoritteri</i> f. SE 65	16	1,88 ± 0,06	ooo	13,2	0,0
11.	<i>M. pygmaea</i> f. DJF 287	13	2,31 ± 0,04	ooo	6,7	61,5
12.	<i>M. pygmaea</i> f. LF 51 A	13	6,15 ± 0,11	***	6,4	30,8
13.	<i>M. pygmaea</i> f. SE 102	11	3,64 ± 0,04	***	3,7	0,0
14.	<i>M. pygmaea</i> f. VS 276	11	3,64 ± 0,05	***	4,8	0,0
15.	<i>M. pygmaea</i> f. VS 277	15	1,33 ± 0,04	ooo	11,2	0,0
16.	<i>M. pygmaea</i> var. <i>iscayachersis</i>	10	4,00 ± 0,10	***	8,2	10,0
17.	<i>M. ritteri</i>	14	5,00 ± 0,12	***	9,4	28,6
18.	<i>M. rosalbiflora</i>	11	1,82 ± 0,06	ooo	10,1	27,3
19.	<i>M. steinmannii</i> var. <i>parvula</i>	18	1,76 ± 0,06	ooo	14,4	5,6
Media experimentului <i>Mean of experiment (Control)</i>		15	2,71 ± 0,08	-	-	19,0

*, **, *** / 0, 00, 000 Semnificația pentru P<0,05; 0,01 și 0,001 (*, **, *** pozitiv; 0, 00, 000 negativ)

*, **, *** / 0, 00, 000 Significant at P<0,05; 0,01 and 0,001 (*, **, *** positive, 0, 00, 000 negative)

Procentul de germinare la semințele genului *Mediolobivia* a avut diferite valori. Specii ca *M. atrovirens* var. *huasiensis*, *M. cincinnata*, *M. haagei* f. SE 60, *M. pseudoritteri* f. SE 65, *M. pygmaea* f. SE 102, *M. pygmaea* f. VS 277 nu au germinat deloc, în timp ce speciile *M. haagei* var. *elegantula* f. SE 56 (50,0%), *M. pygmaea* f. DJF 287 (61,5%), *M. pygmaea* f. LF 51 A (30,8%), *M. ritteri* (28,6%), *M. rosalbiflora* (27,3%) au avut un procent favorabil de germinare.

Ca potențiali genitori în lucrările de ameliorare pentru caracterul greutatea mare a semințelor și procent bun de germinare pot fi recomandate speciile: *M. pygmaea* f. LF 51 A, *M. pygmaea* var. *iscayachersis*, *M. ritteri*.

Rezultatele obținute la speciile genului *Sulcorebutia* au confirmat faptul că germinația slabă a semințelor constituie de multe ori o problemă obstacol în calea obținerii de noi plante la cactuși, multe dintre speciile analizate dovedindu-se refractare din acest punct de vedere.

Astfel, numeroase specii, ca de exemplu: *S. albissima* f. KK1919, *S. candiae* f. MC 5531, *S. candiae* f. WR 707, *S. caracarensis* f. LH 1122, *S. menesesii* f. M196, *S. mentosa* f. SE 123/A, *S. oenantha* f. SE 137B, *S. pampagrandensis* f. SE 127, *S. pampagrandensis* f. SE 126, *S. pulchra* f. VS 421, *S. pulchra* ssp. *lenkae* f. LH 887, *S. pulchra* var. *longispina*, *S. purpurea* var. *horacekii*, *S. tarabucoensis* ssp. *rauschii*, *S. tariiensis* f. SE 72, *S. vasqueziana* f. HS 72, *S. verticilacantha* f. SE 132 au avut procentul de germinare 0,0%.

Pe baza rezultatelor obținute, pot fi recomandați ca potențiali genitori în lucrările de ameliorare pentru o greutatea mare a semințelor și un procent de germinare favorabil următoarele specii: *S. albissima* f. HS 100, *S. breviflora*, *S. cainea* f. L 314, *S. candiae* f. VS 393, *S. frankiana* f. WR 290, *S. mentosa* var. *swoboda* f. SE 188, *S. pulchra* f. HS 78, *S. purpurea* f. HS 115, *S. purpurea* ssp. *jolantae*.

3.2.1. Corelațiile fenotipice dintre caracteristicile semințelor genurilor *Mediolobivia*, *Rebutia*, *Aylosteria*, *Sulcorebutia*

La genotipurile genurilor *Aylosteria*, *Rebutia*, *Mediolobivia* și *Sulcorebutia* s-au studiat și coeficienții de corelație dintre greutatea semințelor și procentul de germinare (Tabelul 3.2.). Calcularea coeficienților de corelație fenotipică s-a efectuat corespunzător variantelor existente, la genurile *Aylosteria* și *Mediolobivia* numărul speciilor / genotipurilor fiind de 19, la genul *Rebutia* 6, iar la genul *Sulcorebutia* 74.

Între cele două caractere nu s-au pus în evidență valori asigurate statistic, ceea ce sugerează faptul că, în prezenta experiență, la materialul biologic analizat, greutatea semințelor nu a influențat capacitatea de germinare a acestora.

Tabelul 3.2./Table 3.2.
Corelațiile fenotipice dintre greutatea semințelor (mg) la genurile *Aylosteria*, *Rebutia*, *Mediolobivia*, *Sulcorebutia* și procentul de germinare
Phenotypic correlations between seeds weight (mg) at Aylosteria, Rebutia, Mediolobivia, Sulcorebutia genera and germination percentage

Genotipul <i>The genotype</i>	Corelațiile fenotipice (<i>r</i> valoarea calculată) <i>Phenotypical correlations (r calculated value)</i>	Valoarea teoretică <i>The theoretical value</i>			Semnificația <i>The significance</i>
		<i>r</i> 5%	<i>r</i> 1%	<i>r</i> 0.1%	
Genul <i>Aylosteria</i>	-0.035	0.532	0.661	0.780	-
Genul <i>Rebutia</i>	0.021				-
Genul <i>Mediolobivia</i>	0.056				-
Genul <i>Sulcorebutia</i>	0.061				-

3.2.2. Variabilitatea greutății semințelor la genurile *Mediolobivia*, *Rebutia*, *Aylosteria*, *Sulcorebutia*

Analizând coeficienții de variabilitate, se poate afirma că variabilitatea greutății semințelor în cadrul celor patru genuri *Aylosteria*, *Mediolobivia*, *Rebutia* și *Sulcorebutia* luate în studiu a fost mare. Limitele coeficienților de variabilitate s-au situat între 37,0% la genul *Aylosteria* și 47,7% la genul *Rebutia* (Figura 3.1.).

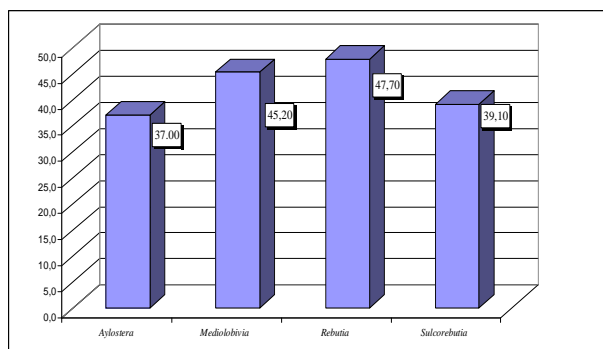


Figura 3.1. Coeficienții de variabilitate pentru greutatea semințelor la genurile *Aylosteria*, *Rebutia*, *Medioblobivia*, *Sulcorebutia*
 Figure 3.1. The coefficient of variability among the *Aylosteria*, *Medioblobivia*, *Rebutia* and *Sulcorebutia* genera

În concluzie, rezultatele obținute prin aplicarea metodelor taxonomice, confirmă dificultățile privind posibilitățile de încadrare corectă a speciilor și genurilor analizate în unități sistematice certe, numai pe baza caracterelor morfologice. Astfel de cercetări sunt însă utile și se adaugă la alte numeroase studii prin care se încearcă să se elucideze problemele legate de taxonomia familiei *Cactaceae*, și să se elimine confuziile legate de nomenclatura mai multor genuri de cactuși (CARRERAS și colab., 1997; LEUENBERGER, 2002; NYFFELER, 2002; LABRA și colab., 2003).

De altfel, BUNINIG și DONALD (1965) au reunit speciile genurilor *Rebutia*, *Medioblobivia*, *Aylosteria* într-un singur gen, cu numele de *Rebutia*, genul *Sulcorebutia* fiind considerat distinct de genul *Rebutia*. În plus, RAUSCH și RITTER (1985) susțin că toate cele patru genuri sunt sinonime și ar trebui să poarte toate numele *Rebutia*.

Cu atât mai mult cu cât la cactuși persistă încă numeroase semne de întrebare privind sistematica și gradul de înrudire între taxonii acceptați sau propuși de diferiți cercetători, studiile în această direcție trebuie continuate.

3.3. REZULTATE OBȚINUTE PRIVIND VARIABILITATEA EXISTENTĂ LA CACTUȘI, PRIN APLICAREA METODELOR DE MARKARE MOLECULARĂ LA SPECIILE GENURILOR *AYLOSTERA*, *REBUTIA* ȘI *MEDILOBIVIA*

Tehnologiile bazate pe markeri moleculari vin astfel să completeze neajunsurile caracterizării morfologice ale genurilor *Aylosteria*, *Rebutia*, *Sulcorebutia* și *Medioblobivia*.

Tehnică moleculară utilizată cu scopul determinării relațiilor taxonomice a speciilor luate în studiu, a fost tehnica markerilor RAPD.

Izolarea ADN-ului la cactuși este dificilă deoarece aceștia conțin cantități mari de polizaharide și metaboliți secundari, care formează complexe insolubile cu acizii nucleici în timpul extracției (GUILLEMAUT și MARECHAL-DROUARD, 1992).

Chiar dacă țesuturile cactușilor conțin o cantitate mare de polifenoli și polizaharide, care co-precipită împreună cu ADN-ul și afectează secvența nucleotidică în amplificarea PCR, protocolul LODHI (1994, îmbunătățit de POP, și colab., 2004) a fost eficient și a redus efectul acestor contaminații.

Folosind acest protocol cantitatea medie de ADN obținută fost de 106,40 ng/μl, rezultate comparabile cu cele obținute de CRUZ (1997), care a utilizat 85 specii, 39 de genuri, obținând o cantitate de ADN ce a variat între 35 ng/μlds și 860 ng/μlds.

În anul 2008 au fost testați 21 de primeri decameri a căror conținut ridicat de guanină și citozină se încadrează între 70%-80%, cu toate cele 52 de probe. Din cei 21 de primeri decameri folosiți pentru amplificare (Tabelul 3.3.), numai cinci au amplificat (23,80%). Acești cinci primeri au fost selecționați pentru desfășurarea analizei RAPD. Au fost obținute un număr de 54 benzi polimorfice, realizându-se o medie de 10,8 benzi/primer.

Numărul de benzi totale/polimorfice generate de cei cinci primeri
Number of total/polymorphic bands produced by the five primers

Nr.	Primer <i>Primer</i>	Secvență nucleotidică (5'-3') <i>Nuclotidic sequence</i>	Numărul total de benzi amplificate <i>Total bands number amplified</i>	Numărul de benzi polimorfice amplificate <i>Number of polymorphic bands amplified</i>
1.	OPA-17	GAC CGC TTG T	166	12
2.	OPA-18	AGG TGA CCG T	151	12
3.	OPA-20	GTT GCG ATC C	181	9
4.	270	TGC GCG CGG G	199	11
5.	563	CGC CGC TCC T	184	10
Total/Total			881	54

3.3.1. Dendrograma speciilor genurilor *Aylostera*, *Rebutia* și *Mediolobivia*

În cazul analizelor RAPD, dendrogramele rezultate prin prelucrarea datelor pe computer constituie o reprezentare fidelă a relațiilor filogenetice dintre diferitele specii de cactuși analizate precum și a diversității genetice existente în cadrul acestor specii de *Cactaceae* (Figura 3.2.).

Analiza dendrogramei relevă o diversificare împărțită la nivelul speciilor în opt grupuri mari, distincte, notate pentru ușurința interpretării cu litere de la „A” la „H”.

Primul grup, notat cu litera „A” reunește următoarele specii: *S. candiae*, *A. narvaecensis*, *A. vallegrandensis*, *R. violaciflora* var. *luteispina*, *R. pygmaea*. De remarcat este faptul că din acest grup fac parte specii aparținând la trei genuri diferite, ceea ce argumentează încercarea botaniștilor de a include toate aceste specii sub o singură denumire, ipoteză susținută de BUNINIG și DOANLD (1965), BARTHLOTT și HUNT (1993), HUNT (1999), ANDERSON (2001) și HUNT (2006). Se poate doar presupune legătura dintre acest aspect al dendrogramei și caracterele fenotipice ale acestor specii, caracterul fenotipic comun fiind numărul mare de spini (de la 7 până la 30), pe care îl prezintă plantele speciilor respective.

Grupul notat cu litera „B” cuprinde specii aparținând la trei genuri diferite, având cel puțin un strămoș comun. Conform dendrogramei, speciile *A. archibuiningiana*, *M. rosalbiflora*, *S. verticilacantha* var. *cuprea* sunt foarte apropiate genetic. Conform rezultatelor, se poate deduce că hibridările între speciile respective sunt ușor de realizat, iar semințele obținute au toate șansele să fie viabile și să dea naștere unor plante fertile.

Potrivit dendrogramei, foarte apropiate genetic sunt și speciile: *A. roseiaurata*, *A. kupperiana* și *R. pseudodeminuta* var. *schumaniana*. De altfel, în literatura de specialitate *Aylostera kupperiana* și *Rebutia pseudodeminuta* var. *schumaniana* sunt descrise ca și sinonime (PILBEAM, 1997). Grupurile notate cu literele „E” și „F” cuprind atât specii ale genului *Aylostera* și *Rebutia*, cât și specia *M. ritteri*. Este interesant faptul că două varietăți ale aceleași specii se află la o distanță genetică relativ mare. Este vorba de *R. xanthocarpa* var. *citricarpa*, care potrivit dendrogramei se află într-un alt grup față de *R. xanthocarpa* var. *splendens*.

Dendrograma prezentată are câteva aspecte care justifică într-o anumită măsură taxonomia conform căreia *Rebutia*, *Mediolobivia* și *Aylostera* sunt clasificate ca un singur gen, denumit *Rebutia* (BUNINIG și DOANLD 1965).

Datele privind caracterele speciilor analizate în dendrogramă și apropierea genetică a speciilor genului *Aylostera* față de speciile genului *Rebutia* nu ridică multe suspiciuni privind posibilitatea identității speciilor, fapt ce ar simplifica major problemele legate de taxonomia cactușilor (MIHALTE și colab., 2010).

Interpretând rezultatele prezentate prin prisma obiectivelor urmărite în hibridările interspecifice și intergenerice la cactuși, se poate afirma că nu vor apare dificultăți desosebite de realizare a hibridărilor datorită unor posibile fenomene de interfertilitate. Eventual, astfel de situații pot interveni atunci când se vor folosi ca genitori speciile *S. candiae* și *R. horstii*.

Diversitatea genetică maximă a descendențelor hibride va fi realizată atunci când genitorii aparțin unor subgrupe sau chiar grupe total diferite, fiind cât mai puțin înrudiți.

Relativ, la genul *Sulcorebutia*, dendograma oferă doar câteva informații, insuficiente, deoarece în anul 2008 au fost analizate numai trei specii: *S. candiae*, *S. rauschii*, *verticilacantha* var. *cuprea*. Prin urmare, o ipoteză care să includă și speciile genului *Sulcorebutia* nu era încă justificată. De aceea, în anul 2009, analiza RAPD a fost reluată, incluzând și speciile ale genului *Sulcorebutia*.

Cele mai apropiate specii din punct de vedere genetic, pe baza analizelor efectuate prin tehnica RAPD, sunt următoarele: *A. narvaecensis* și *A. muscula* (conform datelor obținute, distanța genetică între ele este de 0,38; *A. vallegardensis* și *A. narvaecensis* (0,35).

Analiza RAPD s-a dovedit a fi un instrument valoros de determinare a polimorfismului genetic interspecific în cadrul genurilor *Rebutia*, *Aylostera*, *Mediolobivia* și *Sulcorebutia*, fapt constatat și de studiile precedente.

Speciile analizate se diferențiază molecular respectând gruparea acestora pe baza caracteristicilor morfofiziologice, potrivit taxonomiilor lui ANDERSON (2001); BUNINIG și DONALD (1965); HUNT (2006); PILBEAM și HUNT (2004), dar vin în contradicție cu sistemul BACKEBERG de clasificare a familiei *Cactaceae* (BACKEBERG, 1968-1977).

Studiul de față permite verificarea compatibilității dintre cele două clasificări ale speciilor: cea botanică, bazată pe caractere morfologice, și cea moleculară, bazată pe analiza ADN.

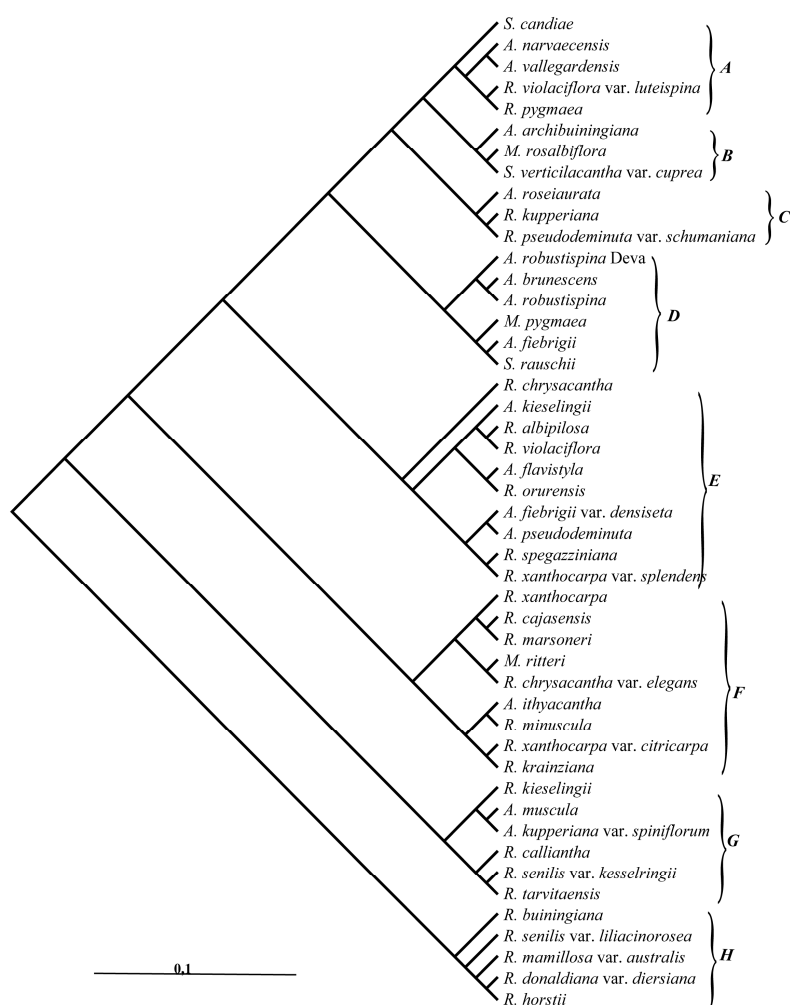


Figura 3.2. Dendrograma speciilor de cactuși din genurile *Rebutia*, *Aylostera*, și *Mediolobivia* din cadrul colecției Grădinii Botanice Cluj-Napoca

Figure 3.2. The dendrogram of cacti species belonging to *Rebutia*, *Aylostera*, and *Mediolobivia* from the collection of Botanical Garden Cluj-Napoca

3.4. REZULTATE OBȚINUTE PRIVIND VARIABILITATEA EXISTENTĂ LA CACTUȘI, PRIN APLICAREA METODELOR DE MARKARE MOLECULARĂ LA SPECIILE GENURILOR *REBUTIA*, *MEDILOBIVIA* ȘI *SULCOREBUTIA*

După cum s-a mai precizat, numeroși cercetători, printre care BARTHLOTT și HUNT (1993), HUNT (1999), ANDERSON (2001) și HUNT (2006), reunesc speciile genurilor *Rebutia*, *Mediolobivia*, *Aylostera* și *Sulcorebutia* într-un singur gen, cu numele de *Rebutia*.

Justificarea comasării genurilor *Rebutia*, *Mediolobivia*, *Aylostera* într-unul singur a fost discutată într-o ipoteză emisă pe baza dendrogramei prezentată anterior. În schimb, s-a considerat că au fost luate în studiu prea puține specii ale genului *Sulcorebutia* pentru a se putea obține rezultate relevante și emite concluzii. De aceea, demersul științific a continuat, avându-se în vedere faptul că KRAINZ (1967) și BACKEBERG (1968-1977) împart genul *Rebutia* în trei genuri: *Aylostera*, *Mediolobivia* și *Rebutia*, iar RITZ și colab. (2007) sugerează sinonimii între genurile *Sulcorebutia* și *Weingartia* și, prin urmare, recomandă comasarea lor într-unul singur.

Pe baza acestor considerente, în cadrul cercetărilor, în anul de studiu 2009, a fost analizată variabilitatea genetică a speciilor de cactuși aparținând genurilor *Rebutia*, *Mediolobivia* și *Sulcorebutia*. Speciile genurilor *Mediolobivia* și *Rebutia* au provenit din schimburile de sămânță practicate între grădinile botanice din țară și din afara țării (Franța, Germania, Cehia, Austria, Slovacia). Speciile genului *Sulcorebutia* au fost procurate din colecția “Coromandel Cacti”, Noua Zeelandă, plantele având vârsta între 2-3 ani.

Folosind același protocol de izolare a ADN-ului (LODHI și colab., 1994, îmbunătățit de POP, și colab., 2004) cantitatea medie de ADN obținută fost de 98,53 ng/μl.

Au fost testați 15 primari decameri cu toate cele 41 de probe. Din cei 15 primari folosiți pentru amplificare, numai cinci au amplificat (Tabelul 3.4.), obținându-se un număr de 39 benzi polimorfice, deci o medie de 7,8 benzi/primer.

Tabelul 3.4./Table 3.4.

Numărul de benzi totale/polimorfice generate de cei cinci primeri
Number of total/polymorphic bands produced by the five primers

Nr.	Primer Primer	Secvență nucleotidică (5'-3') Nucleotide sequence	Numărul total de benzi amplificate Total bands number amplified	Numărul de benzi polimorfice amplificate Number of polymorphic bands amplified
6.	OPA-17	GAC CGC TTG T	153	9
7.	OPA-18	AGG TGA CCG T	161	8
8.	OPA-20	GTT GCG ATC C	172	9
9.	270	TGC GCG CGG G	120	6
10.	OPAL-20	AGG AGT CCG A	134	7
Total/Total			740	39

3.4.1. Dendrograma speciilor genurilor *Rebutia*, *Mediolobivia* și *Sulcorebutia*

Apropierea genetică între speciile luate în studiu, stabilită pe baza matricei distanțelor genetice și a algoritmului Neighbor Joining Tree, este reprezentată sub forma dendrogramei din Figura 3.3.

Analiza dendrogramei relevă o diversitate împărțită în șase grupuri mari, notate pentru a ușura interpretarea cu litere de la “A” la “F”. Grupul “A” este cel mai mare și reunește specii din genul *Mediolobivia* și *Rebutia*, care cu siguranță că au un strămoș comun, ceea ce susține încă odată ipotezele emise de BUNINIG și DONALD (1965), BARTHLOTT și HUNT (1993), HUNT (1999), ANDERSON (2001), și HUNT (2006) potrivit cărora speciile genurilor *Rebutia*, *Mediolobivia* și *Aylostera* ar trebui să fie reunite într-un singur gen, cu numele de *Rebutia*.

Grupul notat cu litera “B” reunește următoarele specii: *M. pygmaea* f. DJF 287, *S. heinzii* HS 151, *S. hoffmanniana* LAN 954 și *S. grandiflora*. Acesta este singurul grup în care specii din genul *Mediolobivia* se află la o distanță genetică mică față de speciile genului *Sulcorebutia*. *M. pygmaea* este unul dintre cele mai controversate genotipuri în ceea ce privește încadrarea lui

sistematică; specia este descrisă ca având peste 20 de sinonimii, și peste 20 de varietăți (PILBEAM, 1997).

Grupul notat cu litera “D” reunește specii care aparțin în totalitate genului *Rebutia*. Toate aceste specii au caractere similare, prezintă plante cu spini scurți, flori de culoare roșie, cu un diametru de 3-4 cm. *R. krainziana*, *S. verticilacantha cuprea* HS 140, *S. torotorensis* și *S. tiraquensis lepida* prezintă o distanță genetică mică între ele și se poate presupune că culoarea petalelor (toate cele patru specii au flori roșii) a fost moștenită de la genitorul pe care îl au în comun. Grupul notat cu litera “F” reunește doar specii ale genului *Sulcorebutia*, prezentând o distanță genetică mică între ele. De fapt, trei genotipuri sunt varietăți ale speciei *S. rauschii*, care este considerată deseori în literatura de specialitate sinonimă cu specia *S. tarabucoensis* var. *callecalensis* LAN 389, iar genotipurile *S. purpurea*, *S. markusii*, *S. santiaginiensis*, la fel, sunt considerate a fi sinonime (FRITZ și colab. 2004, 2008; GERTEL și de VRIES, 2006, 2007, 2008).

În dendrogramă, speciile genului *Sulcorebutia* se regăsesc la nivelul tuturor grupurilor, ceea ce semnifică faptul că ele pot fi incluse fie în genul *Rebutia*, fie în genul *Mediolobivia*. O asemenea dispersie ilustrează dificultățile de încadrare sistematică a cactușilor, și confirmă cercetările lui GRANT (2009), conform căruia, la familia *Cactaceae* există multe forme și varietăți, care aparent tind să fie clasificate ca specii distincte.

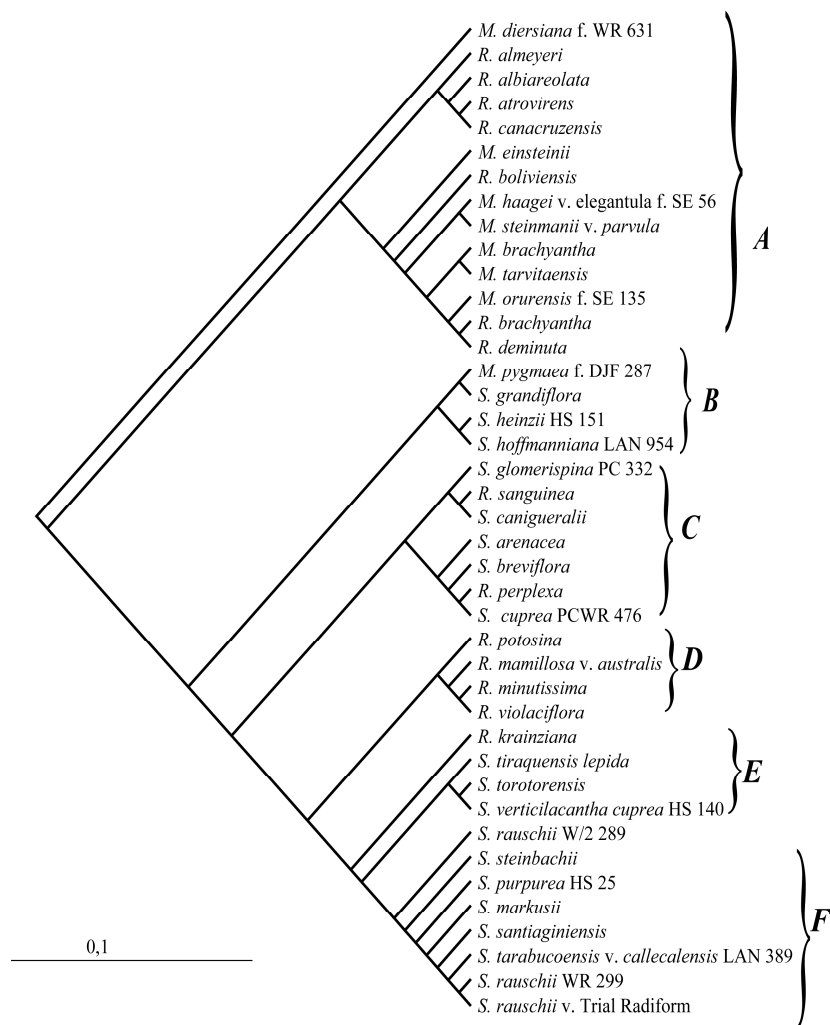


Figura 3.3. Dendrograma speciilor de cactuși din genurile *Rebutia*, *Sulcorebutia* și *Mediolobivia*
 Figure 3.3. The dendrogram of cacti species belonging to *Rebutia*, *Sulcorebutia*, and *Mediolobivia* genera

3.5. REZULTATE PRIVIND VARIABILITATEA EXISTENTĂ LA CACTUȘI, OBTINUTE PRIN APLICAREA METODELOR CITOLOGICE

Numărul de bază de cromozomi la familia *Cactaceae* este $x=11$ (REMSKI, 1954; SOSA și ACOSTA, 1966; JOHNSON, 1980; PALOMINO și colab., 1999).

În experiență, s-a constatat că la toate speciile aparținând colecției Grădinii Botanice „Alexandru Borza” Cluj-Napoca, la care s-a investigat numărul de cromozomi în mitoză, numărul de bază de cromozomi este $x=11$ (Tabelul 3.5.).

Efectuarea de preparate microscopice cu ajutorul metodei „squash” a evidențiat imagini mai puțin clare, datorită suprapunerii celulelor comparativ cu efectuarea preparatelor prin intermediul secționării seriate.

În general, la cactuși, efectuarea de preparate prin metoda „squash”, utilizând ca material biologic țesut meristematic radicular este dificilă, deoarece rădăcina este foarte dură, prezentând un conținut mare de silicați (COPĂCESU, 2001), ceea ce conduce la o etalare necorespunzătoare. De exemplu, la *Cephalocereus senilis*, 85% din substanța uscată este reprezentată de oxalatul de calciu (CHEAVIN, 1938). Studii taxonomice recente relevă prezența și forma cristalelor de oxalat de calciu (GIBSON și HORAK, 1978; TERRAZAS și LOZACORNEJO, 2002).

Majoritatea autorilor relevă faptul că, la speciile din familia *Cactaceae*, lungimea cromozomilor prometafazici poate ajunge la 8 μm , lungimea cromozomilor metafazici fiind cuprinsă între 1-4 (5) μm .

La speciile studiate, lungimea cromozomilor nu a depășit 2 μm . Determinarea lungimii brațului lung, a brațului scurt, a indexului centromeric a fost dificilă, de aceea, în prezentul studiu ne-am limitat la stabilirea numărului de cromozomi din celulele somatice, fără întocmirea cariotipului.

În urma analizei, s-au identificat atât diplozi ($2n=2x=22$), cât și poliplozi. Speciile *Rebutia senilis* var. *liliacinorosea*, *Rebutia pseudodeminuta* var. *schumaniana*, *Mediolobivia diersiana*, *Rebutia calliantha*, *Rebutia donaldiana*, studiate în cadrul colecției Grădinii Botanice „Alexandru Borza” Cluj-Napoca sunt triploide ($2n=3x=33$). Au fost identificate și două specii teraploide, cu $2n=4x=44$: *Rebutia kupperiana* var. *spiniiflorum* și *Sulcorebutia crispata*.

Tabelul 3.5./Table 3.5.
Numărul somatic de cromozomi la diferite specii de cactuși din cadrul colecției Grădinii Botanice „Alexandru Borza” Cluj-Napoca
Somatic chromosomes number at different cacti species belonging to Botanical Garden „Alexandru Borza” Cluj-Napoca

Nr.	Genotipul The genotype	Numărul de cromozomi somatici (2n) Number of somatic chromosomes (2n)	Nivelul de ploidie Ploidy level
1.	<i>Rebutia cajasensis</i>	22	2
2.	<i>Rebutia senilis</i> var. <i>liliacinorosea</i>	33	3
3.	<i>Aylostera flavistyla</i>	22	2
4.	<i>Sulcorebutia candiae</i>	22	2
5.	<i>Rebutia pygmaea</i>	22	2
6.	<i>Rebutia pseudodeminuta</i> var. <i>schumaniana</i>	33	3
7.	<i>Aylostera narvaecensis</i>	22	2
8.	<i>Aylostera buiningiana</i>	22	2
9.	<i>Rebutia kupperiana</i> var. <i>spiniiflorum</i>	44	4
10.	<i>Aylostera vallegardensis</i>	22	2
11.	<i>Aylostera fiebrigii</i>	22	2
12.	<i>Rebutia graciliflora</i>	22	2
13.	<i>Mediolobivia diersiana</i>	33	3
14.	<i>Rebutia calliantha</i>	33	3
15.	<i>Rebutia donaldiana</i>	33	3
16.	<i>Rebutia violaciflora</i> var. <i>luteispina</i>	22	2
17.	<i>Mediolobivia ritteri</i>	22	2
18.	<i>Rebutia marsoneri</i>	22	2
19.	<i>Sulcorebutia markusii</i>	22	2
20.	<i>Sulcorebutia crispata</i>	44	4

Analiza tipurilor de cromozomi la *Cactaceae* relevă existența a trei tipuri de cromozomi (LAS PEÑAS și colab., 2008). Două perechi de cromozomi prezintă centromerul în regiunea submediană (perechile III și IX), două perechi au centromerul în regiunea subterminală Perechile X și XI), iar celelalte șapte perechi de cromozomi au centromerul în regiunea mediană (Perechile I, II, IV-VIII). Această morfologie a cariotipului este regăsită la majoritatea speciilor de *Cactaceae* (LAS PEÑAS și colab., 2008).

3.6. REZULTATE PRIVIND VARIABILITATEA EXISTENTĂ LA CACTUȘI, OBȚINUTE PRIN ANALIZA CAPACITĂȚII DE GERMINARE A POLENULUI

La cactuși, numărul de grăunciori de polen variază de la 160000 la *Opuntia rastrera* (MANDUJANO și colab., 1996) la 330000 la florile masculine de *Opuntia robusta* (DEL CASTILLO, 1994).

Rezultatele privind numărul de grăunciori de polen viabili și sterili, la zece genotipuri din cadrul colecției Grădinii Botanice „Alexandru Borza” Cluj-Napoca sunt prezentate în tabelul 3.6. După cum se poate observa din datele obținute, numărul de grăunciori de polen viabili este mare (mai mult decât 30%), ceea ce înseamnă că succesul polenizării poate fi asigurat din acest punct de vedere, folosind ca genitor patern una din speciile din tabelul 3.6. Evident, rămân în discuție alte aspecte care trebuie avute în vedere în cazul polenizărilor dirijate pentru provocarea variabilității necesare creării de cultivari noi, în primul rând interfertilitatea formelor parentale.

Cel mai mare procent de grăunciori viabili l-a prezentat genotipul *Rebutia kupperiana* v. *spiniflorum*, iar cel mai mic procent a fost înregistrat la specia *Aylostera buiningiana*.

Tabelul 3.6./Table 3.6.
Numărul de grăunciori de polen la diferite specii de cactuși din cadrul colecției Grădinii Botanice „Alexandru Borza” Cluj-Napoca
The number of pollen grains at different cacti species belonging Botanical Garden „Alexandru Borza” Cluj-Napoca

Nr.	Specia <i>The species</i>	Număr total grăunciori de polen numărați <i>Total number of pollen grain counted</i>	Grăunciori colorați (viabili) <i>Coloured grains (viable)</i>	Grăunciori incolori (sterili) <i>Coloureless grains (sterile)</i>	Procent grăunciori viabili <i>Percentage of viable grains</i>	Diametrul Mediu (μm) <i>The mean of diameter (μm)</i>
1.	<i>Rebutia kupperiana</i> v. <i>spiniflorum</i>	430	380	50	88,1	123
2.	<i>Rebutia krainziana</i>	352	303	49	85,4	89,3
3.	<i>Aylostera buiningiana</i>	329	233	96	70,2	56,7
4.	<i>Rebutia spgazzimiana</i>	311	245	66	78,9	79
5.	<i>Aylostera kieslingii</i>	452	394	58	87,1	93,6
6.	<i>Rebutia kupperiana</i>	347	288	59	83,0	67
7.	<i>Aylostera pulchella</i>	359	296	63	82,3	73
8.	<i>Aylostera narvaecensis</i>	396	333	63	83,5	87,4
9.	<i>Aylostera brunescens</i>	427	363	64	84,3	89
10.	<i>Rebutia donaldiana</i>	417	358	59	85,3	92

Forma și mărimea grăunciorilor de polen a fost similară la toate genotipurile luate în studiu. Probabil, diferențe majore ar fi putut fi semnalate dacă s-ar fi apelat la secționarea grăunciorilor de polen, așa cum recomandă și GOTTELLI și colab. (2009), care a constatat diferențe semnificative ale membranelor grăunciorilor de polen la patru specii de *Pterocactus*.

Mărimea grăunciorilor de polen, exprimată prin diametru (μm), a înregistrat diferențe între variante, dar relativ mici, care nu pot constitui chei taxonomice pentru determinarea diferitelor specii, decât, eventual, dacă sunt însoțite de alte caractere ale grăunciorului de polen. Diametrul grăunciorilor de polen a fost măsurat la câte 20 de probe, în tabelul 3.6. fiind redată media diametrului grăunciorilor de polen. Cea mai mare valoare a diametrului a fost observată la *Rebutia kupperiana* v. *spiniflorum* iar cea mai mică la *Aylostera buiningiana*.

Rezultatele obținute sunt în consonanță cu concluziile lui KURTZ (1963), care afirma că mărimea grăunciorilor de polen la cactuși variază între 50 și 132 μm, numărul de pori fiind cuprins între 3 și 12, iar exina (membrana exterioară) prezintă diverse ornamentații.

Multe studii taxonomice au la bază morfologia grăunciorului de polen (KURTZ, 1948; 1963; GARRALLA și CUADRADO, 2007; FERGUSON și KIESLING, 1997; PUNT și colab., 1994), principalele caractere analizate fiind diametrul grăunciorului de polen, numărul de pori, forma exinei.

3.7. REZULTATE OBȚINUTE PRIVIND PROVOCAREA VARIABILITĂȚII ARTIFICIALE ÎN VEDEREA CREĂRII DE NOI GENOTIPURI

3.7.1. Utilizarea hibridării interspecifice și intergenerice pentru provocarea variabilității artificiale

3.7.1.1. Alegerea genitorilor pentru hibridările artificiale

La speciile de cactuși utilizați în scopuri ornamentale, obiectivele de ameliorare sunt îndreptate în principal spre îmbunătățirea calității elementelor decorative (floare, fruct, forma plantei) și crearea unor cultivari noi rezistente la boli și dăunători.

În prezentul experiment, în scopul efectuării polenizărilor artificiale, au fost luate în considerare specii din genurile *Aylostera* și *Rebutia*, care înfloresc primele primăvara și ajung la maturitate sexuală relativ repede (aproximativ 3 ani).

Alegerea genitorilor utilizați în modelele de hibridare interspecifică și intergenerică s-a efectuat pe baza unor considerente de ordin estetic (forma plantei, culoarea areolelor, culoarea spinilor, diametrul florii, culoarea florii, durata de înflorire). Astfel, s-au ales ca forme parentale următoarele genotipuri: *Aylostera muscula*, *Aylostera flavistyla*, *Aylostera fiebrigii*, *Aylostera fiebrigii* var. *densiseta*, *Aylostera spinosissima*, *Aylostera narvaecensis*, *Aylostera archibuiningiana*, *Aylostera buiningiana*, *Aylostera vallegardensis*, *Aylostera albiflora*, *Rebutia senilis*, *Rebutia senilis* var. *hyalacantha*, *Rebutia tarvitaensis*, *Rebutia cajasensis*, *Rebutia spegazziniana*, *Rebutia pseudodeminuta* var. *schumaniana*, *Rebutia kupperiana*, *Rebutia kupperiana* var. *spiniflorum*, *Rebutia donaldiana*.

Alegerea acestor genitori s-a efectuat ținându-se seama și de alte considerente, prin care s-a urmărit reușita hibridărilor. La unele specii, ex. *A. narvaecensis*, *A. buiningiana*, *R. cajasensis*, *R. spegazziniana*, *R. kupperiana*, *R. kupperiana* var. *spiniflorum* și *R. donaldiana* (Tabelul 3.6.), a fost testată viabilitatea polenului, ele prezentând peste 70-80% grăunciori de polen viabili. S-a considerat că o viabilitate ridicată a polenului oferă premise pentru succesul polenizării (ARDELEAN, 1994), folosind speciile enumerate.

În general, formele parentale alese sunt plante cu tulpina globulară, au flori mari (diametrul florilor este cuprins între 2,5 cm și 4 cm), colorate într-o gamă variată de culori (roz, portocaliu, roșu, alb) și prezintă caracteristici favorabile de ansamblu.

3.7.1.2. Rezultate obținute prin efectuarea polenizărilor artificiale după modelul hibridărilor ciclice

Folosind modelul ciclic de hibridare s-au realizat 14 combinații hibride interspecifice și 16 combinații hibride intergenerice.

Polenizările în cadrul fiecărei combinații hibride s-au realizat pe 10 plante, fiecare plantă având aproximativ 10 flori. Întrucât nu toate combinațiile, respectiv formulele parentale alese, au prezentat interfertilitate, s-au obținut semințe în 12 combinații hibride interspecifice și 12 combinații hibride intergenerice (Tabelul 3.7.).

Hibridările între *A. buinigiana* x *A. favistyla*, *Aylostera muscula* x *Aylostera albiflora*, *Rebutia senilis* x *Aylostera muscula*, *Rebutia tarvitaensis* x *Aylostera muscula*, *Aylostera flavistyla* x *Rebutia senilis*, *Rebutia senilis* x *Aylostera flavistyla* nu au reușit. Speciile *Aylostera flavistyla* și *Rebutia senilis* pot fi considerate incompatibile, deoarece polenizarea dintre ele nu a reușit, nici folosind *Aylostera flavistyla* ca și genitor matern, nici ca genitor patern.

În prezentul studiu, majoritatea speciilor (*A. flavistyla*, *A. fiebrigii*, *A. narvaecensis*, *A. buiningiana*, *A. vallegardensis*, *R. cajasensis* și *R. donaldiana*) au fost diploide (Tabelul 3.5); s-au utilizat și două specii triploide (*R. senilis* var. *hyalacantha* și *R. pseudodeminuta* v. *schumaniana*) și una tetraploidă (*R. kupperiana* var. *spiniflorum*).

S-a constatat, conform datelor din tabelul 3.7., că gradul diferit de ploidie nu a influențat succesul hibridărilor. O dovadă în acest sens o constituie încrucișarea dintre *R. kupperiana* var. *spiniflorum* ($2n=4x=44$) și *A. buiningiana* ($2n=2x=22$). Cercetările lui PARKS și BOYLE (2003) efectuate pe un număr de șapte varietăți de *Schlumbergera*, au relevat faptul că un număr mai mare de semințe s-au obținut la încrucișările dintre formele diploide ($2n=2x=22$ x $2n=2x=22$), decât la celelalte încrucișări, dar semințe viabile s-au obținut și la hibridările de tipul $2n=4x=44$ x $2n=4x=44$, sau $2n=4x=44$ x $2n=2x=22$, sau $2n=3x=33$ x $2n=4x=44$.

Tabelul 3.7./Table 3.7.

Combi-națiile hibride efectuate și rezultatele hibridărilor ciclice
Hybrid combinations and results of the hybridizations

Nr.	Genotipul matern (♀) Mother genotype (♀)	Genotipul patern (♂) Father genotype (♂)	Combi-națiile hibride Hybrid combinations
	Specia Species	Specia Species	Rezultate (fructe și semințe) Results of hybridization (fruits and seeds)
Hibridări interspecifice Interspecific hybridizations			
1.	<i>R. spegaziana</i>	<i>R. senilis</i>	Da/Yes
2.	<i>R. pseudodeminuta</i> var. <i>schumaniana</i>	<i>R. senilis</i>	Da/Yes
3.	<i>R. cajasensis</i>	<i>R. senilis</i>	Da/Yes
4.	<i>R. senilis</i>	<i>R. kupperiana</i> var. <i>spiniflorum</i>	Da/Yes
5.	<i>R. senilis</i>	<i>R. spegaziana</i>	Da/Yes
6.	<i>R. senilis</i> var. <i>hyalacantha</i>	<i>R. spegaziana</i>	Da/Yes
7.	<i>A. flavistyla</i>	<i>A. archibuinigiana</i>	Da/Yes
8.	<i>A. buiningiana</i>	<i>A. vallegardensis</i>	Da/Yes
9.	<i>A. muscula</i>	<i>A. vallegardensis</i>	Da/Yes
10.	<i>A. fiebrigii</i>	<i>A. vallegardensis</i>	Da/Yes
11.	<i>A. muscula</i>	<i>A. buiningiana</i>	Da/Yes
12.	<i>A. buinigiana</i>	<i>A. flavistyla</i>	Nu/No
13.	<i>A. muscula</i>	<i>A. albiflora</i>	Nu/No
14.	<i>A. spinosissima</i>	<i>A. albiflora</i>	Da/Yes
Hibridări intergenere Intergeneric hybridizations			
1.	<i>R. senilis</i>	<i>A. muscula</i>	Nu/No
2.	<i>R. tarvitaensis</i>	<i>A. muscula</i>	Nu/No
3.	<i>R. cajasensis</i>	<i>A. muscula</i>	Da/Yes
4.	<i>A. flavistyla</i>	<i>R. senilis</i>	Nu/No
5.	<i>A. fiebrigii</i> var. <i>densiseta</i>	<i>R. senilis</i>	Da/Yes
6.	<i>A. spinosissima</i>	<i>R. senilis</i>	Da/Yes
7.	<i>A. muscula</i>	<i>R. kupperiana</i> var. <i>spiniflorum</i>	Da/Yes
8.	<i>A. narvaecensis</i>	<i>R. kupperiana</i> var. <i>spiniflorum</i>	Da/Yes
9.	<i>A. spinosissima</i>	<i>R. spegaziana</i>	Da/Yes
10.	<i>R. cajasensis</i>	<i>A. archibuinigiana</i>	Da/Yes
11.	<i>R. senilis</i>	<i>A. archibuinigiana</i>	Da/Yes
12.	<i>R. donaldiana</i>	<i>A. buiningiana</i>	Da/Yes
13.	<i>R. kupperiana</i> var. <i>spiniflorum</i>	<i>A. buiningiana</i>	Da/Yes
14.	<i>R. cajasensis</i>	<i>A. flavistyla</i>	Da/Yes
15.	<i>R. senilis</i>	<i>A. flavistyla</i>	Nu/No
16.	<i>R. buinigiana</i>	<i>A. albiflora</i>	Da/Yes

Rezultatele obținute confirmă datele din literatura de specialitate, privind intercompatibilitatea, dar și intersterilitatea întâlnită în hibridările interspecifice și intergenerice la cactuși, în funcție de formele utilizate ca genitori. Hibridările realizate de către GÜNTER și HENTZSCHEL (2001) între *Sulcorebutia*, *Weingartia*, *Rebutia* și *Echinopsis* au condus la următoarele rezultate: hibridări intraspecifice pot fi realizate între majoritatea speciilor de *Sulcorebutia*, însă hibridările dintre *Sulcorebutia* și *Rebutia* nu au dus la obținerea unei generații viabile F₁.

Rezultatele sunt cu atât mai interesante, cu cât hibridările dintre *Aylostera densiseta*, *Aylostera brunescens*, *Aylostera fiebrigii*, *Aylostera muscula*, *Aylostera pseudodeminuta*, *Aylostera kupperiana*, *Aylostera kiesselringii* și diferite specii ale genului *Rebutia* ar trebui să conducă la obținerea unei generații viabile F₁, deoarece distanța genetică dintre ele este mică (MIHALTE și colab., 2008; MIHALTE și colab., 2010).

3.7.2. Rezultate privind variabilitatea principalelor caracteristici ale semințelor hibride obținute din combinații interspecifice

3.7.2.1. Greutatea fructelor și greutatea semințelor, numărul de semințe/fruct și procentul de germinare

În încrucișările interspecifice, pentru greutatea fructului (Tabelul 3.8.), comparativ cu media experienței, considerată variantă martor (13,96 mg), s-au înregistrat diferențe semnificativ pozitive la următoarele combinații hibride: *R. pseudodeminuta* var. *schumaniana* x *R. senilis* (23,26 mg) și *A. buiningiana* x *A. vallegardensis* (20,40 mg). Diferențe negative, respectiv o greutate mică a fructului, s-au înregistrat la combinațiile hibride *A. fiebrigii* x *A. vallegardensis* (8,16 mg) și la încrucișarea *R. senilis* x *R. spegaziana* (9,88 mg).

Pe baza coeficienților de variabilitate, se poate afirma că, în combinațiile studiate, greutatea fructelor prezintă o largă variabilitate. Faptul că greutatea semințelor a prezentat o uniformitate mică, permite să fie apreciată drept un caracter neomogen pentru ansamblul materialului biologic din experiență. Valorile extreme ale coeficienților de variabilitate au fost înregistrate la combinațiile *A. spinosissima* x *A. albiflora* cu un minim de 12,3%, respectiv la combinația *A. flavistyla* x *A. archibuinigiana* cu un maxim de 98,4%.

Comparativ cu media experienței, considerată martor (9,78 mg), diferențe semnificative pentru greutatea semințelor au fost înregistrate în încrucișările: *R. pseudodeminuta* var. *schumaniana* x *R. senilis* (22,50 mg), *A. buiningiana* x *A. vallegardensis* (18,48 mg) și *R. senilis* x *R. spegaziana* (15,26 mg). O greutate mică a semințelor au prezentat combinațiile hibride: *R. cajasensis* x *R. senilis* (7,14 mg), *A. fiebrigii* x *A. vallegardensis* (3,36 mg) și *A. flavistyla* x *A. archibuinigiana* (2,00 mg).

În concluzie, valorile cele mai mari pentru greutatea fructelor și a semințelor au fost înregistrate în combinațiile: *A. buiningiana* x *A. vallegardensis*, *R. pseudodeminuta* var. *schumaniana* x *R. senilis*. Este foarte probabil ca aceste rezultate să se datoreze în principal zestrei ereditare a genitorilor materni, însă nu sunt de exclus și posibile efecte ale genitorilor paterni, și, în mod cert, cele cauzate de condițiile de mediu și cultură, și interacțiunile dintre genotip și ecotip.

Pentru numărul de semințe/fruct valori pozitive, semnificative au fost observate la următoarele combinații hibride: *A. muscula* x *A. vallegardensis* (93,20) și *R. pseudodeminuta* var. *schumaniana* x *R. senilis* (67,20).

Un număr mic de semințe/fruct a fost înregistrat la genotipurile hibride, aparținând următoarelor combinații hibride: *A. flavistyla* x *A. archibuinigiana*, *R. senilis* var. *hyalacantha* x *R. spegaziana*, *A. fiebrigii* x *A. vallegardensis*.

Pe baza coeficienților de variabilitate se poate afirma că variabilitatea caracterului numărul de semințe/fruct este mică, doar combinația hibridă *A. flavistyla* x *A. archibuinigiana* prezentând o variabilitate medie (CV%=20,0%).

Procentul de germinare a semințelor provenite din combinațiile hibride interspecifice a avut în general valori mici, doar semințele din câteva combinații prezentând o germinație mai bună: *A. spinosissima* x *A. albiflora* (3,40%); *R. senilis* x *R. spegaziana* (3,24%).

În unele variante, semințele nu au germinat. Astfel, la combinațiile hibride *R. spegaziana* x *R. senilis*, *R. pseudodeminuta* var. *schumaniana* x *R. senilis*, *R. senilis* var. *hyalacantha* x *R. spegaziana*, *A. flavistyla* x *A. archibuinigiana* procentul de germinare a fost 0,00%.

Tabelul 3.8./Table 3.8.
Greutatea fructelor, greutatea semințelor, numărul de semințe/fruct și procentul de germinare la combinațiile hibride interspecifice, semnificația diferențelor* și coeficientul de variabilitate
The fruits and seeds weight, the number of seeds/fruit and germination percentage of interspecific hybrid combinations, significance of values and coefficient of variability*

Nr.	Combi-nația hibridă (♀ x ♂) Hybrid combination (♀ x ♂)	Greutatea fructelor <i>Fruits weight</i>		Greutatea semințelor <i>Seeds weight</i>		Numărul de semințe/fruct Number of seeds/fruit		Procentul de germinare (%) <i>Germination Percentage</i>
		Media ± s _x (mg) <i>Mean ± s_x (mg)</i>	CV%	Media ± s _x (mg) <i>Mean ± s_x (mg)</i>	CV%	Media ± s _x (mg) <i>Mean ± s_x (mg)</i>	CV%	
1.	<i>R. spegaziana</i> x <i>R. senilis</i>	11,54 ± 4,03	78,1	27,00 ± 0,71 ^o	5,9	5,48 ± 0,20 ^{ooo}	8,1	0,00
2.	<i>R. pseudodeminuta</i> var. <i>schumaniana</i> x <i>R. senilis</i>	23,26 ± 3,59 ^{***}	34,5	67,20 ± 0,37 ^{***}	1,2	22,50 ± 0,49 ^{***}	4,9	0,00
3.	<i>R. cajasensis</i> x <i>R. senilis</i>	10,18 ± 2,12	46,6	34,80 ± 0,80	5,1	7,14 ± 0,33 ^{oo}	10,4	2,29
4.	<i>R. senilis</i> x <i>R. kupperiana</i> var. <i>spiniflorum</i>	12,88 ± 1,45	25,2	23,00 ± 0,71 ^{ooo}	6,9	8,38 ± 0,22	5,8	0,86
5.	<i>R. senilis</i> x <i>R. spegaziana</i>	9,88 ± 1,98 ^o	44,9	30,80 ± 0,80	5,8	15,26 ± 0,38 ^{***}	5,6	3,24
6.	<i>R. senilis</i> v. <i>hyalacantha</i> x <i>R. spegaziana</i>	12,74 ± 2,30	40,3	13,80 ± 0,37 ^{ooo}	6,1	7,98 ± 0,37 ^o	10,3	0,00
7.	<i>A. flavistyla</i> x <i>A. archibuinigiana</i>	10,54 ± 4,64	98,4	5,00 ± 0,45 ^{ooo}	20,0	2,00 ± 0,04 ^{ooo}	5,0	0,00
8.	<i>A. buinigiana</i> x <i>A. vallegardensis</i>	20,40 ± 1,21 ^{***}	13,2	21,40 ± 0,81 ^{ooo}	8,5	18,48 ± 0,26 ^{***}	3,1	0,93
9.	<i>A. muscula</i> x <i>A. vallegardensis</i>	19,76 ± 3,27	37,0	93,20 ± 0,86 ^{***}	2,1	9,52 ± 0,23	5,5	0,42
10.	<i>A. fiebrigii</i> x <i>A. vallegardensis</i>	8,16 ± 1,88 ^{oo}	51,5	14,40 ± 0,75 ^{ooo}	11,6	3,36 ± 0,27 ^{ooo}	18,1	2,38
11.	<i>A. muscula</i> x <i>A. buinigiana</i>	14,14 ± 1,62	25,6	30,00 ± 0,89	6,7	8,32 ± 0,30	8,0	0,66
12.	<i>A. spinosissima</i> x <i>A. albiflora</i>	14,02 ± 0,77	12,3	47,00 ± 0,45 ^{***}	2,1	8,94 ± 0,19	4,8	3,40
Media experienței (Mt)/ <i>Mean of experiment (Control)</i>		13,96	42,3	9,78	7,5	33,97	6,8	-

* , ** , *** / ^{o, oo, ooo} Semnificația pentru P<0,05; 0,01 și 0,001 (* , ** , *** pozitiv; ^{o, oo, ooo} negativ)
* , ** , *** / ^{o, oo, ooo} Significant at P<0,05; 0,01 and 0,001 (* , ** , *** positive, ^{o, oo, ooo} negative)

3.7.3. Rezultate privind variabilitatea principalelor caracteristici ale semințelor hibride obținute din combinații intergenere

3.7.3.1. Greutatea fructelor și greutatea semințelor, numărul de semințe/fruct și procentul de germinare

Comparativ cu media experienței, considerată martor (14,54 mg), în combinațiile hibride intergenere studiate (Tabelul 3.9.), greutatea fructului a înregistrat valori semnificativ pozitive la fructele hibride aparținând următoarelor încrucișări: *R. senilis* x *A. Archibuinigiana*, *R. cajasensis* x *A. muscula*. Valori mici ale greutății fructelor au fost observate la combinațiile hibride intergenere: *A. spinosissima* x *R. senilis*, *A. muscula* x *R. kupperiana* var. *spiniflorum*, *A. narvaecensis* x *R. kupperiana* var. *spiniflorum*.

Pe baza coeficienților de variabilitate a caracterului, se poate afirma că greutatea fructelor la combinațiile hibride intergenere a prezentat o variabilitate medie. La combinația *A. spinosissima* x *R. spegaziana* s-a înregistrat cea mai mică valoare a coeficientului de variabilitate (CV=6,5%) și la combinația *A. buinigiana* x *A. albiflora* cea mai mare valoare (CV=25,4%).

Combi-nații hibride intergenere: *R. senilis* x *A. archibuinigiana*, *R. cajasensis* x *A. archibuinigiana*, *R. cajasensis* x *A. muscula* au prezentat valori mari ale greutății semințelor: 10,70 mg, 12,70 mg, respectiv 16,30 mg. Valori semnificativ inferioare ale greutății semințelor

au fost înregistrate la următoarele combinații hibride; *R. cajasensis* x *A. flavistyla* (6,46 mg), *A. muscula* x *R. kupperiana* var. *spiniflorum* (6,42 mg), *A. spinosissima* x *R. spegaziana* (5,86 mg), *A. narvaecensis* x *R. kupperiana* var. *spiniflorum* (5,68 mg), *R. kupperiana* var. *spiniflorum* x *A. buiningiana* (5,64 mg), *A. buinigiana* x *A. albiflora* (3,02 mg), *A. spinosissima* x *R. senilis* (0,90 mg). Variabilitatea caracterului greutatea semințelor a fost mică, doar combinația hibridă *A. buinigiana* x *A. albiflora* a prezentat un coeficient de variabilitate mai mare (24,80%).

În concluzie, valorile cele mai mari pentru greutatea fructelor și a semințelor au fost înregistrate în combinațiile: *R. cajasensis* x *A. muscula*, *A. fiebrigii* var. *densiseta* x *R. senilis*, *R. cajasensis* x *A. archibuinigiana*, *R. senilis* x *A. archibuinigiana*. Este foarte probabil ca aceste rezultate să se datoreze în principal zestrei ereditare a genitorilor materni, însă nu sunt de exclus și posibile efecte ale genitorilor paterni, și, în mod cert, cele cauzate de condițiile de mediu și cultură, și interacțiunile dintre genotip și ecotip.

Tabelul 3.9./Table 3.9.

Greutatea fructelor, greutatea semințelor, numărul de semințe/fruct și procentul de germinare la combinațiile hibride intergenerice, semnificația diferențelor* și coeficienții de variabilitate
The fruits and seeds weight, the number of seeds/fruit and germination percentage of intergeneric hybrid combinations, significance of values and coefficient of variability*

Nr.	Combinația hibridă (♀ x ♂) <i>Hybrid combination</i> (♀ x ♂)	Greutatea fructelor <i>Fruits weight</i>		Greutatea semințelor <i>Seeds weight</i>		Numărul de semințe/fruct <i>Number of seeds/fruit</i>		Procentul de germinare (%) <i>Germination Percentage</i>
		Media ± s _x (mg) <i>Mean ± s_x (mg)</i>	CV%	Media ± s _x (mg) <i>Mean ± s_x (mg)</i>	CV%	Media ± s _x (mg) <i>Mean ± s_x (mg)</i>	CV%	
1.	<i>R. cajasensis</i> x <i>A. muscula</i>	23,10 ± 0,92 ^{***}	8,9	90,40 ± 1,00 ^{***}	2,5	16,30 ± 0,73 ^{***}	10,1	2,21
2.	<i>A. fiebrigii</i> v. <i>densiseta</i> x <i>R. senilis</i>	19,40 ± 0,68 ^{***}	7,8	97,00 ± 1,70 ^{***}	3,9	14,10 ± 0,71 ^{***}	11,2	1,44
3.	<i>A. spinosissima</i> x <i>R. senilis</i>	1,92 ± 0,18 ⁰⁰⁰	21,0	5,00 ± 0,40 ⁰⁰⁰	20,0	0,90 ± 0,04 ⁰⁰⁰	11,1	0,00
4.	<i>A. muscula</i> x <i>R. kupperiana</i> var. <i>spiniflorum</i>	8,24 ± 0,57 ⁰⁰⁰	15,5	8,40 ± 0,40 ⁰⁰⁰	10,6	6,42 ± 0,37 ⁰⁰⁰	13,0	2,38
5.	<i>A. narvaecensis</i> x <i>R. kupperiana</i> v. <i>spiniflorum</i>	9,80 ± 0,37 ⁰⁰⁰	8,4	11,60 ± 0,20 ⁰⁰⁰	4,7	5,68 ± 0,08 ⁰⁰⁰	3,1	5,17
6.	<i>A. spinosissima</i> x <i>R. spegaziana</i>	18,44 ± 0,54 ^{***}	6,5	59,00 ± 0,40 ^{***}	1,7	5,86 ± 0,18 ⁰⁰⁰	7,0	0,00
7.	<i>R. cajasensis</i> x <i>A. archibuinigiana</i>	22,70 ± 0,73 ^{***}	7,2	56,00 ± 0,40 ^{***}	1,8	19,00 ± 0,24 ^{***}	2,9	3,92
8.	<i>R. senilis</i> x <i>A. archibuinigiana</i>	29,20 ± 1,36 ^{***}	10,4	75,60 ± 0,40 ^{***}	1,2	21,30 ± 0,37 ^{***}	3,9	0,79
9.	<i>R. donaldiana</i> x <i>A. buiningiana</i>	15,40 ± 0,84	12,1	58,00 ± 0,90 ^{***}	3,4	12,00 ± 0,45 [*]	8,3	0,34
10.	<i>R. kupperiana</i> v. <i>spiniflorum</i> x <i>A. buiningiana</i>	11,74 ± 0,66 ^o	12,5	19,00 ± 0,70 ⁰⁰⁰	10,5	5,64 ± 0,24 ⁰⁰⁰	9,7	4,21
11.	<i>R. cajasensis</i> x <i>A. flavistyla</i>	8,62 ± 0,56 ⁰⁰⁰	14,6	19,20 ± 0,40 ⁰⁰⁰	7,7	6,46 ± 0,10 ⁰⁰⁰	3,6	4,16
12.	<i>A. buinigiana</i> x <i>A. albiflora</i>	5,90 ± 0,67 ⁰⁰⁰	25,4	8,80 ± 0,70 ⁰⁰⁰	9,5	3,02 ± 0,34 ⁰⁰⁰	24,8	0,00
Media experienței (Mt)/ <i>Mean of experiment (Control)</i>		14,54	12,50	9,72	9,1	42,33	6,5	-

* , ** , *** / 0, 00, 000 Semnificația pentru P<0.05; 0.01 și 0.001 (* , ** , *** pozitiv; 0, 00, 000 negativ)

* , ** , *** / 0, 00, 000 Significant at P<0.05; 0.01 and 0.001 (* , ** , *** positive, 0, 00, 000 negative)

Valori semnificative pozitive pentru caracterul numărul de semințe/fruct au fost înregistrate la semințele hibride aparținând combinațiilor: *A. fiebrigii* var. *densiseta* x *R. senilis*, *R. cajasensis* x *A. muscula*, *R. senilis* x *A. archibuinigiana*.

Numărul de semințe/fruct, la fel ca și greutatea semințelor, prezintă o variabilitate mică. La combinația *R. senilis* x *A. archibuinigiana* s-a observat cea mai mică valoare (1,2%), iar cea mai mare valoare aparține combinației hibride *A. spinosissima* x *R. senilis* (20,0%).

Procentul de germinare a semințelor obținute în urma încrucișărilor intergenerice a avut valori mai mari decât a semințelor obținute în urma încrucișărilor interspecificice: *A. narvaecensis* x *R. kupperiana* var. *spiniflorum*, *R. kupperiana* var. *spiniflorum* x *A. buiningiana*, *R. cajasensis* x *A. flavistyla*, *R. cajasensis* x *A. archibuinigiana*.

În urma rezultatelor obținute, rezultă că un număr mare de semințe/fruct și un procent bun de germinare au avut semințele din combinațiile: *A. narvaecensis* x *R. kupperiana* var. *spiniflorum*, *R. kupperiana* var. *spiniflorum* x *A. buiningiana*, *R. cajasensis* x *A. flavistyla*, *R. cajasensis* x *A. archibuinigiana*, *A. muscula* x *R. kupperiana* var. *spiniflorum*, *R. cajasensis* x *A. muscula*.

Un rezultat interesant îl constituie faptul că un procent mai mare de germinare au avut semințele provenite din încrucișările intergenerice, decât cele obținute în încrucișările interspecificice. Acest rezultat poate confirma ipoteza formulată anterior, conform căreia

caracteristicile semințelor și capacitatea lor de germinare se datorează în principal zestrei ereditare a genitorilor materni. Argumentul este destul de plauzibil, însă procentul mare de germinare a semințelor în hibridările intergenerice este mai greu de explicat, întrucât este cunoscut faptul că, cu cât formele parentale sunt mai îndepărtate, ca grad de înrudire, cu atât intersterilitatea dintre ele este mai accentuată.

3.7.4. Corelațiile fenotipice dintre principalele caracteristici ale semințelor obținute din combinațiile interspecifice și intergenerice

Între greutatea fructelor, numărul de semințe/fruct și greutatea semințelor s-au înregistrat corelații directe, semnificative și pozitive (Tabelul 3.10.). Între greutatea fructelor și greutatea semințelor coeficientul de corelație avut valoarea 0,756, iar între greutatea fructelor și numărul de semințe valoarea „r” a fost de 0,656. În general, coeficienții de corelație au prezentat valori mari la combinațiile intergenerice (0,874; 0,927 și 0,807) față de combinațiile interspecifice.

Atât în combinațiile hibride interspecifice, cât și în combinațiile hibride intergenerice nu s-au înregistrat coeficienți de corelație cu valori asigurate statistic între greutatea semințelor, numărul de semințe/fruct și procentul de germinare. Rezultatul sugerează faptul că, în experiență, caracteristicile fructelor și ale semințelor nu influențează procesul de germinare.

Tabelul 3.10./Table 3.10.

Corelațiile fenotipice dintre caracteristicile fructelor și ale semințelor la combinațiile hibride interspecifice
Phenotypical correlations among fruit and seed characteristics at the interspecific hybrid combinations

Caracterul <i>The trait</i>	Combi-nații hibride interspecifice			Ombi-nații hibride intergenerice		
	Numărul de semințe/fruct <i>Number of seeds/fruit</i>	Greutatea semințelor (mg) <i>Seeds weight (mg)</i>	Procentul de germinare (%) <i>Germination percentage</i>	Numărul de semințe/fruct <i>Number of seeds/fruit</i>	Greutatea semințelor (mg) <i>Seeds weight (mg)</i>	Procentul de germinare (%) <i>Germination percentage</i>
Greutatea fructelor (mg) <i>Fruits weight (mg)</i>	0,656 **	0,756 **	-0,413	0,874 ***	0,927 ***	-0,036
Numărul de semințe/fruct <i>Number of seeds/fruit</i>	-	0,428	-0,027	-	0,807 ***	-0,229
Greutatea semințelor (mg) <i>Seeds weight (mg)</i>	-	-	-0,007	-	-	0,055
Procentul de germinare (%) <i>Germination percentage</i>	-	-	-	-	-	-

$r_{5\%} = 0,532$; $r_{1\%} = 0,661$; $r_{0.1\%} = 0,780$

Datele obținute demonstrează că în cercetările efectuate hibridările interspecifice și cele intergenerice au reușit, ele concretizându-se prin obținerea de semințe, dar procentul de germinare a semințelor respective a fost scăzut. În prezentul studiu, efectuat la Grădina Botanică „Alexandru Borza” Cluj-Napoca, lumina folosită pentru germinarea semințelor a fost cea solară; asupra temperaturii nu s-a intervenit, temperatura din seră fiind cea notată în Capitolul 5, al prezentei teze.

Conform datelor din literatura de specialitate, semințele majorității speciilor familiei *Cactaceae* sunt clasificate ca fotoblaste, germinează doar la lumină (ORTEGA-BAES și colab., 2010; MEIADO și colab., 2010). S-a constatat, de asemenea, că tratamentele cu temperaturi de 30-38°C nu au nici un efect asupra germinației semințelor (SANCHEZ-SOTO și colab., 2010), iar capacitatea de germinare a semințelor la unele specii de cactuși nu este afectată de intensitatea sau calitatea undei luminoase (MEIADO și colab., 2010).

Procentul de germinare a semințelor obținute din hibridări intergenerice a înregistrat valori mai mari decât la semințele obținute din hibridările interspecifice: *A. narvaecensis* x *R. kupperiana* var. *spiniflorum* (5.17%), *R. kupperiana* var. *spiniflorum* x *A. buiningiana* (4.21%), *R. cajasensis* x *A. flavistyla* (4.16%), *R. cajasensis* x *A. archibuinigiana* (3.92%).

Proporția mică de germinare a semințelor cactușilor poate fi explicată prin prisma modului diferit de creștere a acestora. Cactușii cu o creștere columnară prezintă o mai bună

proporție de germinare a semințelor, decât cactușii globulari (ORTEGA-BAES și colab., 2010). Speciile genurilor *Aylostera* și *Rebutia* sunt specii de cactuși globulari; de asemenea, este posibil ca semințele hibride să prezinte fenomenul de latență. În studiile efectuate, specia *Aylostera fiebrigii* a prezentat o capacitate de germinare mică a semințelor (MIHALTE și colab., 2009).

3.7.5. Rezultate privind variabilitatea principalelor caracteristici ale hibridilor F₁ obținuți prin hibridări ciclice interspecifice și intergenerice

3.7.5.1. Diametrul plantelor, numărul de spini/areolă și lungimea spinilor

Diametrul plantelor, caracter de interes la cactuși, a prezentat valori diferite în cadrul combinațiilor hibride (Tabelul 3.11.), media hibridilor F₁ în familiile studiate oscilând semnificativ în comparație cu media pe experiență, considerată variantă martor (2,5 cm).

Amplitudinea de variație a avut limitele cuprinse între 1,5 cm, la combinația *R. cajasensis* x *A. muscula* și 3,6 cm, la combinația *A. spinosissima* x *A. albiflora*.

Valori mari ale diametrului plantei, ilustrând o vigoare mare de creștere, au prezentat hibridii din următoarele combinații: *R. senilis* x *R. kupperiana* var. *spiniiflorum*, *A. buiningiana* x *A. vallegardensis*, *A. muscula* x *A. vallegardensis*.

În general, valorile cele mai mari ale caracterului studiat s-au înregistrat la hibridii proveniți din combinațiile interspecifice.

La polul opus, cele mai mici valori pentru diametrul plantelor au prezentat descendenții seminali din combinațiile hibride: *R. senilis* x *R. spegaziana*, *R. senilis* x *A. archibuinigiana*, *R. cajasensis* x *A. flavistyla*, toate cu diferențe asigurate statistic.

Tabelul 3.11./Table 3.11.

Diametrul plantelor, numărul de spini/areolă și lungimea spinilor, coeficienții de variabilitate și semnificația diferențelor* la hibridii F₁
The plant diameter, the number of spines/areolas and the length of spines, coefficient of variability and significance of values * at F₁ hybrids

Nr.	Combi-nația hibridă (♀ x ♂) Hybrid combination (♀ x ♂)	Diametrul (cm) Plant diameter	CV%	Numărul de spini/areolă Number of spines/areolas	CV%	Lungimea a spinilor (mm) The length of spines	CV%
1.	<i>R. cajasensis</i> x <i>R. senilis</i>	2,6 ± 0,1	8,4	14,5 ± 6,2 ^{ooo}	8,9	20,0 ± 4,2 ⁺	11,3
2.	<i>R. senilis</i> x <i>R. kupperiana</i> var. <i>spiniiflorum</i>	3,2 ± 0,7 ^{*(*)}	8,4	22,3 ± 1,6	7,7	15,8 ± 0,1	7,2
3.	<i>R. senilis</i> x <i>R. spegaziana</i>	1,8 ± 0,8 ^{oo}	11,9	22,5 ± 1,8	5,7	17,2 ± 1,4	9,8
4.	<i>A. buiningiana</i> x <i>A. vallegardensis</i>	3,3 ± 0,8 ^{**}	23,0	15,5 ± 5,2 ^{ooo}	13,4	20,6 ± 4,8 ⁺	9,4
5.	<i>A. muscula</i> x <i>A. vallegardensis</i>	3,2 ± 0,7 ^{*(*)}	13,3	23,5 ± 2,8 ^{**}	5,5	9,6 ± 6,3 ^{oo}	17,7
6.	<i>A. fiebrigii</i> x <i>A. vallegardensis</i>	2,5 ± 0,0	19,0	20,5 ± 0,2	6,3	26,2 ± 10,4 ^{***}	13,8
7.	<i>A. muscula</i> x <i>A. buiningiana</i>	2,6 ± 0,1	8,6	22,5 ± 1,8	5,7	9,8 ± 6,0 ^{oo}	13,6
8.	<i>A. spinosissima</i> x <i>A. albiflora</i>	3,6 ± 1,1 ^{***}	8,2	23,3 ± 2,6 ^{**}	11,8	15,5 ± 0,3	13,6
9.	<i>R. cajasensis</i> x <i>A. muscula</i>	1,5 ± 1,0 ^{ooo}	14,4	16,8 ± 4,0 ^{ooo}	10,2	8,8 ± 7,1 ^{ooo}	20,9
10.	<i>A. fiebrigii</i> var. <i>densiseta</i> x <i>R. senilis</i>	2,4 ± 0,2	11,3	27,8 ± 7,1 ^{***}	6,2	27,1 ± 11,3 ^{***}	11,3
11.	<i>A. muscula</i> x <i>R. kupperiana</i> var. <i>spiniiflorum</i>	2,8 ± 0,3	6,2	25,5 ± 4,8 ^{***}	5,1	11,4 ± 4,4 ^o	17,8
12.	<i>A. narvaecensis</i> x <i>R. kupperiana</i> var. <i>spiniiflorum</i>	2,2 ± 0,3	24,7	21,5 ± 0,8	6,0	12,8 ± 3,0	23,8
13.	<i>R. cajasensis</i> x <i>A. archibuinigiana</i>	2,1 ± 0,4	12,3	17,5 ± 3,2 ^{ooo}	11,9	8,5 ± 7,4 ^{ooo}	37,5
14.	<i>R. senilis</i> x <i>A. archibuinigiana</i>	1,9 ± 0,6 ^o	28,2	19,8 ± 0,9	8,6	14,4 ± 1,4	18,7
15.	<i>R. donaldiana</i> x <i>A. buiningiana</i>	2,4 ± 0,1	17,7	20,8 ± 0,1	10,7	18,2 ± 2,4	28,8
16.	<i>R. cajasensis</i> x <i>A. flavistyla</i>	2,0 ± 0,5 ^o	12,7	21,5 ± 0,8	8,9	17,6 ± 1,8	19,0
Media (Mt)/Mean of experiment (Control)		2,5	14,2	21,0	8,3	15,8	17,1
	DL 5%		0,5		2,5		3,7
	DL 1%		0,7		3,3		4,9
	DL 0.1%		0,9		4,3		6,4

Datele din tabelul 3.11. relevă faptul că în populațiile F₁ s-a înregistrat o variabilitate diferită a caracterului analizat în familiile interspecifice și intergenerice, după cum urmează: variabilitate mică (CV% < 10) în rândul hibridilor din combinațiile: *R. cajasensis* x *R. senilis*, *R. senilis* x *R. kupperiana* var. *spiniiflorum*; variabilitate medie (CV% = 10-20) la majoritatea combinațiilor; variabilitate mare (CV% > 20) la combinațiile: *A. narvaecensis* x *R. kupperiana* var. *spiniiflorum*, *R. senilis* x *A. archibuinigiana*.

Având în vedere marea putere de adaptabilitate a cactușilor la condițiile de mediu, se poate spune că spinii sunt frunze complet metamorfozate. Astfel, numărul de spini/areolă, lungimea și culoarea lor sunt caractere destul de stabile, frecvent utilizate în descrierea diverselor tipuri de cactuși.

Variabilitatea numărului de spini la hibridii F_1 a fost destul de mică, doar combinațiile *A. buiningiana* x *A. vallegardensis*, *R. cajasensis* x *A. archibuinigiana* având hibridi cu o variabilitate medie a caracterului.

Comparativ cu media experienței (21,0), numărul de spini/areolă la hibridii F_1 a înregistrat valori semnificativ pozitive în următoarele combinații: *A. fiebrigii* var. *densiseta* x *R. senilis*, *A. muscula* x *R. kupperiana* var. *spiniiflorum*, *A. muscula* x *A. vallegardensis* și *A. spinosissima* x *A. albiflora*.

Rezultatele obținute sugerează ereditatea poligenică a caracterului, întrucât și genitorii din aceste combinații intergenerice și interspecifice au fost remarcați pentru numărul mare de spini/areolă.

Studiul descendenților seminali obținuți din polenizările artificiale efectuate, a evidențiat faptul că la hibridii F_1 spinii centrali lipsesc, ca de altfel și la formele lor parentale. De asemenea, la hibridii respectivi spinii marginali (radiali) sunt plasați în areole sub formă de rozete.

La hibridii F_1 , lungimea medie a spinilor (caracter exprimat în mm) a avut valori pozitive, semnificative, în următoarele combinații: *A. fiebrigii* x *A. vallegardensis*, *A. fiebrigii* var. *densiseta* x *R. senilis*, *A. buiningiana* x *A. vallegardensis* și *R. cajasensis* x *R. senilis*.

Valori foarte mici ale lungimii spinilor, asigurate statistic, au fost înregistrate la hibridii aparținând următoarelor familii: *R. cajasensis* x *A. muscula*, *R. cajasensis* x *A. archibuinigiana*, *A. muscula* x *A. vallegardensis*.

Hibridi F_1 cu valori mici ale diametrului plantelor, număr redus de spini/areolă și lungime mică a spinilor s-au obținut în încrucișările: *R. cajasensis* x *A. muscula* și *R. cajasensis* x *A. archibuinigiana*.

Prin valori superioare ale caracterelor analizate, respectiv diametrul plantei, numărul de spini/areolă și lungimea spinilor, s-au remarcat combinațiile: *A. fiebrigii* var. *densiseta* x *R. senilis* și *A. buiningiana* x *A. vallegardensis*. Rezultă că în formulele parentale respective, speciile *A. fiebrigii* var. *densiseta*, *R. senilis*, *A. buiningiana*, *A. vallegardensis* pot da naștere unor hibridi F_1 în rândul cărora selecția pentru identificarea unor plante elită cu particularități decorative deosebite să fie extrem de eficientă.

3.7.6. Studiul principalilor parametri genetici ai caracteristicilor analizate la hibridii F_1

3.7.6.1. Variabilitatea și heritabilitatea caracteristicilor studiate

Principalele caracteristici ale hibridilor F_1 obținuți în urma hibridărilor interspecifice și intergenerice efectuate în colecția de cactuși de la Grădina Botanică „Alexandru Borza” Cluj-Napoca au fost discutate și prin prisma coeficienților de variabilitate calculați în interiorul fiecărei familii hibride (Tabelul 3.12.). Datele obținute au ilustrat existența unei ample diversități, variabilitatea rezultată manifestându-se atât în interiorul combinațiilor hibride (familii), cât și între combinații.

Cea mai mică valoare a coeficientului de variabilitate s-a înregistrat pentru numărul de spini/areolă (18,0%). Întrucât CV% pentru acest caracter este cuprins între 10-20%, valoarea respectivă poate fi interpretată ca o variabilitate medie (BOTEZ și colab., 1995). Cu o variabilitate amplă (CV% > 20) au fost înregistrate caracterele: diametrul plantelor (26,9%) și lungimea spinilor (38,4%).

Rezultatele obținute ilustrează că, la cactuși, prin hibridare artificială, interspecifică și intergenerică, se pot obține hibrizi care să ofere o largă bază de selecție pentru principalele caracteristici ale plantelor. Prin urmare, selecția în direcția identificării unor descendenți care să manifeste particularități ornamentale deosebite poate fi extrem de eficientă.

Tabelul 3.12./Table 3.12.

Variabilitatea caracteristicilor analizate la hibridii F₁
The variability of the analyzed traits at F₁ hybrids

Nr.	Caracterul studiat <i>The studied traits</i>	Coeficientul de variabilitate (CV%) <i>The coefficient of variability</i>	Coeficientul de heritabilitate <i>Coefficient of heritability</i>	
			În sens larg (H ²) <i>Broad sense(H²)</i>	În sens restrâns (h ²) <i>Narrower sense (h²)</i>
1.	Diametrul plantelor <i>Plant diameter</i>	26,9	0,909	0,691
2.	Numărul de spini/areolă <i>Number of spines/areolas</i>	18,0	0,943	0,797
3.	Lungimea spinilor <i>Length of the spines</i>	22,4	0,948	0,810

Pentru determinarea cotei cu care participă genotipul la exprimarea fenotipică a caracterelor studiate, s-au calculat coeficienții de heritabilitate (Tabelul 3.12.) în sens larg (H²) și în sens restrâns (h²).

La speciile horticole alogame, așa cum este și cazul speciilor de cactuși luate în studiu, eficiența selecției fenotipice este în mod decisiv afectată de mărimea coeficientului de heritabilitate.

Heritabilitatea în sens larg a fost cuprinsă între 0,909 (diametrul plantelor) și 0,948 (lungimea spinilor). Rezultă că toate caracterele analizate au, cel puțin în condițiile experienței de față, un puternic determinism genetic, fiind puternic influențate de genotip, și într-o măsură relativ redusă de mediul de cultură (seră).

Valorile coeficientului de heritabilitate în sens restrâns au fost mari la toate caracterele studiate, ceea ce sugerează că o proporție mare din varianța genetică totală a diametrului plantelor, a numărului de spini/areolă și a lungimii spinilor la hibridii F₁ se datorează varianței aditive. Prin urmare, aceste caracteristici, datorită aditivității lor ridicate, se vor transmite cu fidelitate în descendențele hibride.

Pentru toate caracterele luate în studiu, selecția fenotipică practică în populațiile reprezentate de hibridii F₁ poate fi eficientă, datorită faptului că valoarea mare a heritabilității în sens larg este însoțită de o valoare mare a coeficientului de heritabilitate în sens restrâns.

Rezultă că, în experiență, valoarea mare de ameliorare a principalelor caractere decorative ale plantelor permite ca, printr-o alegere judicioasă a genitorilor, să poată fi obținute descendențe generative în care selecția să fie încununată de succes, facilitând crearea unor noi cultivari valoroase.

Întrucât transmiterea de la genitori și fixarea în descendențele hibride F₁ ale unor asemenea caractere este posibilă, studiile privind evaluarea fondului de germoplasmă la cactuși, cele de identificare ale unor potențiali genitori, de provocare a variabilității prin hibridări dirijate și efectuare a selecției sunt absolut justificate și extrem de utile în vederea obținerii de soiuri noi.

3.8. REZULTATE OBȚINUTE PRIVIND ÎMBUNĂȚĂȚIREA CAPACITĂȚII DE GERMINAȚIE A SEMINTELOR ȘI POSIBILITATEA APLICĂRII UNOR TRATAMENTE DE CREȘTERE A PROCENTULUI DE GERMINARE

Înmulțirea prin semințe este o metodă de reproducere cu o importanță deosebită, deoarece menține diversitatea genetică a diferitelor populații de cactuși. Cu toate acestea, studiile privind viabilitatea, longevitatea semințelor, precum și aplicarea unor tehnici de îmbunătățire a germinației sunt relativ puține (ROJAS-AREHCHIGA și VAHZQUEZ-YANES, 2000).

Pe baza acestor considerente și datorită faptului că în experiență germinarea semințelor pe un anumit substrat a fost relativ mică, s-a inițiat un alt experiment, în care s-a studiat facultatea germinativă și capacitatea germinativă a semințelor în condiții de laborator. În acest scop, s-au utilizat diferite variante de tratamente cu fitohormoni (descrise în capitolul de material și metodă), aspecte mai puțin studiate la cactuși (ORTEGA-BAESA și ROJAS-ARÉCHIGAB, 2007).

Rezultatele obținute au demonstrat că variantele de tratament V_4 (0,1 mM acid salicilic) și V_5 (0,1 mM acid acetilsalicilic) au blocat complet procesul de germinație a semințelor. În urma tratamentelor respective, nici o sămânță nu a germinat, probabil datorită faptului că acidul salicilic este un fitohormon, care în anumite doze induce instalarea fenomenelor de moarte celulară. Experiența trifactorială a fost realizată cu factorii experimentali V_1 (apă), V_2 (soluții apoase cu un conținut ridicat de sodiu), V_3 (soluții apoase cu 9% ANA).

Comparând variantele tratate cu media experienței, valori asigurate statistic s-au remarcat în toate cele trei variante experimentale. În cazul tratării semințelor cu auxine-ANA (V_3), precum și în cazul tratării cu soluții apoase de sodiu, valorile energiei germinative au fost foarte semnificative, respectiv distinct semnificative. În cazul tratării semințelor cu apă, procentul energiei germinative a fost negativ, fiind mult mai mic (14,9%) față de media experienței.

Rezultatul pozitiv obținut în urma tratamentului cu auxine a semințelor era de așteptat, cunoscându-se efectele și rolul pozitiv pe care îl au auxinele (ANA) în procesele de diviziune celulară, elongare, diferențiere celulară, în formarea mugurilor și înfloririi, în întârzierea îmbătrânirii țesuturilor (NI și colab., 2001).

Cele trei variante de tratament au influențat și mod semnificativ capacitatea de germinare. Cele mai mici valori ale capacității de germinare s-au înregistrat la prima variantă de tratament (doar pulverizare cu apă), cu abateri asigurate statistic, negative.

Tratamentul cu soluții apoase de sodiu (V_2) a asigurat valori pozitive la unele genotipuri, dar relativ puține ca număr, comparativ cu V_1 , sau V_3 .

La varianta de tratament cu un conținut de auxine (ANA) de 9%, s-au înregistrat cele mai multe valori pozitive, semnificative sau foarte semnificative, ale capacității de germinare la mai multe genotipuri, comparativ cu varianta V_2 , sau V_1 de tratament. S-a confirmat, ca și în cazul energiei germinative, că tratamentul cu auxine poate îmbunătăți semnificativ capacitatea de germinare a semințelor de *Cactaceae*.

Indiferent de genotipul analizat, se poate afirma că tratarea semințelor la *Cactaceae* cu auxine (ANA) 9% îmbunătățește semnificativ atât energia germinativă, cât și capacitatea de germinație a semințelor. Probabil, aceleași rezultate pozitive s-ar fi obținut și în cazul tratării semințelor cu citochinine, gibereline, acid abscisic și etilena, substanțe care sunt clasificate ca fitohormoni, sau regulatori de creștere.

Indiferent de varianta de tratament aplicată, specia *A. kieslingii* a înregistrat cele mai mici procente ale energiei germinative și ale capacității de germinare. Specia *M. orurensis* a înregistrat cel mai mare procent al energiei germinative, iar *R. kupperiana* v. *spiniflorum* cel mai mare procent al capacității de germinare.

CAPITOLUL IV

CONCLUZII ȘI RECOMANDĂRI

Dintre numeroasele genuri ale familiei *Cactaceae*, în prezenta teză au fost luate în studiu patru (*Aylostera*, *Rebutia*, *Mediolobivia*, și *Sulcorebutia*), reprezentantele unor plante care cresc spontan în condiții mai vitrege în Bolivia și nordul Argentinei, dar care sunt și cultivate pentru aspectul lor decorativ.

Familia *Cactaceae* prezintă o amplă diversitate, numărul speciilor estimându-se la peste 1600 (NOBEL, 2002), de aceea, studiile filogenetice la cactuși constituie o cerință imperioasă, cu atât mai mult cu cât există controverse privind sistematica familiei. Există numeroase opinii în literatura de specialitate conform cărora speciile genurilor *Mediolobivia*, *Sulcorebutia*, *Aylostera* ar trebui încadrate în genul *Rebutia*, ca subgenuri, eventual ca varietăți distincte.

Având în vedere aceste considerente, în prezentul studiu au fost analizate 247 de genotipuri de cactuși aparținând genurilor *Rebutia*, *Mediolobivia*, *Aylostera* și *Sulcorebutia*, cu scopul obținerii unor informații relevante privind asemănările, respectiv deosebirile dintre ele (și în acest fel, obținerea unor contribuții proprii, originale, la studiile taxonomice de actualitate, desfășurate în prezent la aceste genuri pe plan mondial). Cercetările au avut în vedere și studiul variabilității fenotipice, genotipice și moleculare la aceste *Cactaceae*, posibilitatea identificării unor genotipuri care să fie utilizate în programele de ameliorare, provocării unei variabilități utile procesului de selecție și obținerii unor noi genotipuri.

Rezultatele obținute au reliefat faptul că diferențele pentru principalele caracteristici studiate (diametrul plantelor, numărul spinilor, lungimea spinilor, diametrul florilor, culoarea florilor) la speciile genurilor *Rebutia*, *Aylostera*, *Sulcorebutia* și *Mediolobivia* (clasificate după sistemul BACKEBERG) au fost relativ mici.

Concluziile studiului prin prisma rezultatelor de mai sus justifică tendințele de încadrare a acestor specii într-un singur gen, datele și informațiile obținute în cadrul cercetărilor fiind în mare măsură în concordanță cu cele din literatura de specialitate.

Dendogramele elaborate și interpretarea lor au scos în evidență unele aspecte prin care relațiile filogenetice dintre specii sunt apropiate de cele ale taxonomiei care clasifică genurile *Rebutia*, *Mediolobivia*, *Aylostera* ca un singur gen, cu denumirea de *Rebutia*. Astfel, prin rezultatele obținute s-au confirmat unele ipoteze formulate în urma cercetărilor recente în domeniu (ANDERSON, 2001; PILBEAM și HUNT, 2004; HUNT, 2006).

Rezultatele obținute referitoare la principalele caracteristici ale plantelor la speciile analizate prin compararea datelor fenotipice cu cele moleculare, reflectate de dendograme, respectiv apropierea genetică a speciilor genului *Aylostera* față de speciile genului *Rebutia* nu au ridicat multe suspiciuni privind posibilitatea identității speciilor, fapt ce ar simplifica major problemele legate de taxonomia cactușilor (MIHALTE și colab., 2010).

Cercetările complexe efectuate au inclus și o analiză exhaustivă efectuată pe baza caracteristicilor semințelor. La 118 accesioni din totalul genotipurilor de cactuși luate în studiu s-a analizat și variabilitatea principalelor caracteristici ale semințelor.

Din cadrul genului *Aylostera*, potențiali genitori în lucrările de ameliorare pentru procentul ridicat de germinare a semințelor, și prin urmare capacitatea de a da naștere unor descendențe hibride ample, au fost considerate speciile: *A. heliosa* f. R 314, *A. mamiliosa* var. *australis*, *A. nivosa*, *R. vallegrandensis*, *M. pygmaea* f. LF 51 A, *M. pygmaea* var. *iscayachensis*, *M. ritteri*.

În același scop, din genul *Sulcorebutia* au fost recomandați ca potențiali genitori în noi lucrări de ameliorare speciile: *S. albissima* f. HS 100, *S. breviflora*, *S. cainea* f. L 314, *S. candiae* f. VS 393, *S. frankiana* f. WR 290, *S. mentosa* var. *swobodae* f. SE 188, *S. pulchra* f. HS 78, *S. purpurea* f. HS 115, *S. purpurea* ssp. *jolantae*.

În afara recomandării ca potențiali genitori pentru lucrările de ameliorare, speciile remarcate anterior pot constitui și o sursă de gene valoroasă pentru obținerea de noi plante, întrucât procesul de înmulțire prin semințe a cactușilor ridică de multe ori probleme și obstacole dificile pentru producătorii de semințe și amatorii de cactuși.

Analiza variabilității genetice la *Cactaceae* a cuprins și analiza numărului de cromozomi în mitoză la diferite specii din colecția Grădinii Botanice „Alexandru Borza” Cluj-Napoca.

Rezultatele obținute au relevat faptul că numărul de bază de cromozomi la cactușii analizați a fost $x=11$, identificându-se nu numai forme diploide ($2n=2x=22$), cât și poliploide. Cercetările au permis identificarea speciilor *Rebutia senilis* var. *liliacinorosea*, *Rebutia pseudodeminuta* var. *schumaniana*, *Mediolobivia diersiana*, *Rebutia calliantha*, *Rebutia donaldiana* ca triploide ($2n=3x=33$). Au fost identificate și două specii tetraploide ($2n=4x=44$): *Rebutia kupperiana* var. *spiniflorum* și *Sulcorebutia crispata*.

Studiile efectuate asupra numărului de grăunciori de polen, a viabilității și sterilității lor, la zece specii din colecția Grădinii Botanice „Alexandru Borza” Cluj-Napoca au relevat un număr mare de grăunciori de polen viabili (cu mult peste 30% la toate genotipurile).

Studiul variabilității genotipice și fenotipice la speciile de cactus a permis selecția unor genotipuri valoroase, în scopul utilizării acestora ca potențiali genitori în hibridări artificiale (interspecifice și intergenerice) și provocarea variabilității necesare creării de noi cultivaruri.

Pe lângă experiențele în care s-a urmărit studiul variabilității genetice la *Cactaceae*, obiectivele cercetărilor au avut în vedere și posibilitățile de provocare a variabilității genetice și obținerii de noi genotipuri, precum și transmiterea ereditară a unor caracteristici importante în ameliorarea cactușilor în scopuri decorative.

În acest sens, s-au efectuat polenizări artificiale, aplicându-se un model de hibridări ciclice, conceput cu 16 combinații hibride intergenerice și 14 combinații hibride interspecifice. În 12 combinații hibride interspecifice și 12 intergenerice polenizările artificiale au reușit și s-au obținut semințe. Prelucrarea statistică a rezultatelor a permis obținerea unor informații interesante și utile privind caracteristicile fructelor și ale semințelor obținute în urma încrucișărilor efectuate, precum și interfertilitatea diferită în funcție de formulele parentale alese.

Potențiali genitori în lucrările de ameliorare pentru capacitatea bună de germinare a semințelor și obținerea unor descendențe ample, au fost considerate următoarele combinații hibride: *R. senilis* x *R. spegaziana*, *A. spinosissima* x *A. albiflora*, *R. cajasensis* x *R. senilis*, *A. fiebrigii* x *A. vallegardensis*, *A. narvaecensis* x *R. kupperiana* var. *spiniflorum*, *R. kupperiana* var. *spiniflorum* x *A. buiningiana*, *R. cajasensis* x *A. flavistyla*, *R. cajasensis* x *A. archibuinigiana*, *A. muscula* x *R. kupperiana* var. *spiniflorum*, *R. cajasensis* x *A. muscula*. S-a constatat că între combinațiile remarcate s-au situat atât formule interspecifice cât și intergenerice.

Între greutatea semințelor, numărul de semințe/fruct și procentul de germinare a semințelor, coeficienții de corelație calculați nu au prezentat valori asigurate din punct de vedere statistic. Prin urmare, atât în combinațiile hibride interspecifice, cât și în cele intergenerice nu au fost înregistrate legături strânse între principalele caracteristici ale semințelor, fapt care a sugerat că în experiențele desfășurate, caracteristicile fructelor sau ale semințelor nu influențează procesul de germinare a semințelor.

Rezultate inedite s-au obținut prin studiile efectuate la descendenții seminali rezultați în urma încrucișărilor dirijate între genitorii aleși pe baza analizelor anterioare. Hibrizii F_1 au fost analizați prin prisma principalelor caracteristici de interes decorativ a cactușilor: diametrul plantelor, numărul de spini/areolă, lungimea spinilor.

O vigoare mare de creștere, exprimată prin valori mari ale diametrului plantelor, au prezentat hibrizii din următoarele combinații (familii hibride): *R. senilis* x *R. kupperiana* var. *spiniflorum*, *A. buiningiana* x *A. vallegardensis*, *A. muscula* x *A. vallegardensis*. În afara genitorilor din încrucișările menționate, ca potențiali genitori pentru obținerea unor plante

viguroase, cu număr mare de spini/areolă și lungime mare a spinilor pot fi recomandate și formele parentale utilizate în hibridările: *A. fiebrigii* var. *densiseta* x *R. senilis* și *A. buiningiana* x *A. vallegardensis*.

Rezultatele obținute indică faptul că, prin hibridare, în condițiile alegerii unor genitori adecvați, pot fi creați descendenți cu particularități adecvate selecției în direcția unor forme decorative interesante, cu însușiri ornamentale deosebite. Prezentul studiu a permis obținerea unor informații relevante, concrete, privind alegerea judicioasă a unor potențiali genitori, precum și capacitatea lor de a da naștere unor progeni cu particularități favorabile unei selecții eficiente.

Dintre caracteristicile studiate la hibridii F₁, coeficienții de variabilitate au ilustrat o variație diferită atât în interiorul fiecărei combinații (familii hibride), cât și între combinații. Prelucrarea statistică a datelor a permis identificarea combinațiilor hibride în care, prin valoarea caracterelor de interes (medii mari) și variabilitatea acestora (largă), șansele aplicării cu succes a selecției în direcția identificării unor plante elită cu particularități ornamentale deosebite să fie maximă.

Pentru determinarea cotei cu care participă genotipul la exprimarea fenotipică a caracterelor analizate, s-au calculat coeficienții de heritabilitate în sens larg (H²) și în sens restrâns (h²). Toate caracterele analizate au avut în condițiile experiențelor un puternic determinism genetic, fiind puternic influențate de genotip și într-o măsură relativ redusă de mediul de cultură (seră).

La cactuși, înmulțirea prin semințe are o importanță deosebită, asigurând menținerea diversității genetice a diferitelor populații (atât naturale, cât și artificiale de cactuși). Majoritatea studiilor privind înmulțirea prin semințe a cactușilor oferă doar recomandări pentru diferite rețete de substrat (BACH, 1998; PETERS, 1998; KOHLSCHREIBER, 1998).

Pe baza acestor considerente și datorită faptului că germinarea semințelor pe un anumit substrat a fost relativ mică, în cadrul cercetărilor s-a derulat un experiment în care s-a studiat facultatea germinativă și capacitatea de germinație a semințelor de cactuși în condiții de laborator.

Studiile au demonstrat că la *Cactaceae*, indiferent de genotip, tratarea semințelor cu auxine (ANA) 9% a îmbunătățit semnificativ atât energia germinativă, cât și capacitatea de germinație.

Crearea unei baze de date în urma unui studiu exhaustiv, efectuat la nivel fenotipic, genotipic și molecular, la speciile genurilor *Aylostera*, *Mediolobivia*, *Rebutia* și *Sulcorebutia* este utilă în identificarea genotipurilor, și oferă informații relevante cu privire la mult controversata taxonomie a acestor specii de cactuși. Multiplele aspecte teoretice și practice ale ameliorării speciilor familiei *Cactaceae* prezentate în teză au fost util îmbinate cu cele din domeniul taxonomiei moleculare.

În acest sens, teza reprezintă un studiu complex, morfologic, genetic și molecular la *Cactaceae*, care se constituie într-o contribuție cu totul originală pentru țara noastră, și aduce informații științifice inedite la cunoștințele existente pe plan mondial, în problematici de mare actualitate și interes urmărite în cele mai moderne cercetări.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. ANDERSON, E.F., 2001, The cactus family, *Ed. Timber, Portland, OR*.
2. ARDELEAN, M., 1994, Ameliorarea plantelor horticole și tehnică experimentală, Partea I-a, Îndrumător de lucrări practice, *Tipo Agronomia, Cluj-Napoca*.
3. BACH, D., 1998, Soils for succulents-A nurseryman's view, *Cactus and Succulent Journal*, 70, 7-9.
4. BACKEBERG, C., 1958-1962, Die *Cactaceae*-Vol I-VI. *Veb Gustav Fischer Verlag Jena*.
5. BACKEBERG, C., 1966, *Wunderwelt Kakteen-Veb Gustav Fischer Verlag Jena*.
6. BACKEBERG, C., 1968-1977, Das Kakteenlexicon, *Veb Gustav Fischer Verlag Jena*.
7. BADANO, E., B. SCHLUMBERGER, 2001, Sistema de cruzamiento y estimaciones en la eficiencia de

- polinización sobre *Trichocereus pasacana* (Cactaceae) en dos poblaciones del Noroeste Argentino, *Gayana Bot*, 58, 115-122.
8. BARTHLOTT, W., D.R. HUNT, 1993, *Cactaceae*, Ín: K. Kubitzki, J.G. Rohwer and V. Bittrich, Eds., *The families and genera of vascular plants*, Springer Verlag, Berlin, 161-197.
 9. BOOKE, N.H., 1980, Developmental morphology and anatomy in *Cactaceae*, *BioScience*, 30, 605-610.
 10. BOOSFELD, A., 1920, Beitrage zur vergleichenden Anatomie stammsukkulenter Pflanzen, *Beihungen der Botanisches Centralblatt*, 37, 217-258.
 11. BOWERS, J.E., 2002, Flowering patterns and reproductive ecology of *Mammillaria grahamii* (Cactaceae), a common, small cactus in the Sonoran Desert, *Madroño*, 49, 201-206.
 12. BRAVO-HELLIS, H., 1978, Las *Cactaceas* de Mexico, Vol. I. *Universidad Nacional Autonoma de Mexico*.
 13. BRIONES, F., G. PALOMINO, A. GARCIA, 2004, Chromosome analysis of *Mammillaria supertexta*, *M. crucigera* and *M. haageana* and their comparison with *M. san-angelensis* (Cactaceae), *Caryologia*, 57:3, 211-218.
 14. BUNINIG, A., J. DONALD, 1965, Superfluous or dubious names and hybrids, *British Cactus and Succulent*, 27:2, 41-49.
 15. BUXBAUM, F., 1950, Morphology of Cacti, Section I. Ín: Edwin B.K. Eds., *Roots and Stems*, Abbey Garden Press, Pasadena, California.
 16. CARRERAS, M.E., E. FUENTES, E.F. MERINO, 1997, Seed protein patterns of nine species of *Cactaceae*, *Biochem. Syst. Ecol*, 25, 43-49.
 17. CASAS, A., A. VALIENTE-BANUET, A. ROJAS-MARTÍNEZ, P. DÁVILA, 1999, Reproductive biology and the process of domestication of the columnar cactus *Stenocereus stellatus* in Central Mexico, *American Journal of Botany*, 86, 534-542.
 18. CHARLESWORTH, D., B. CHARLESWORTH, 1987, Inbreeding depression and its evolutionary consequences, *Annual Review of Ecological Systems*, 18, 237-268.
 19. CLARK-TAPIA, R., F. MOLINA-FREANER, 2004, Reproductive ecology of the rare clonal cactus *Stenocereus eruca* in the Sonoran desert, *Plant Systematics Evolution*, 247, 155-164.
 20. CONDE, L.F., 1975, Anatomical comparisons of five species of *Opuntia* (Cactaceae), *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 62, 425-473.
 21. CORNEANU, G., 1984, Elemente de anatomie, Ín: Copăcescu S.V., Bogdan B., Grigoraş V. Eds., *Cactușii*, Edit. Scrisul Românesc, Craiova.
 22. COTA, J.B., R.S. WALLANCE, 1995, Karyotypic studies in the genus *Echinocereus* (Cactaceae) and their taxonomic significance, *Caryologia*, 48:2, 105-122.
 23. COTA, J.H., C.T. PHILBRICK, 1994, Chromosome number variation and polyploidy in the genus *Echinocereus* (Cactaceae), *American Journal of Botany*, 81, 1054-1062.
 24. CRUZ, M., F. RAMIREZ, H. HERNANDEZ, 1997, DNA Isolation and Amplification from Cacti, *Plant Molecular Biology Reporter*, 15, 319-325.
 25. DEL CASTILLO, R.F., 1994, Polinización y otros aspectos de la biología floral de *Ferocactus histrix*, *Cactaceas y Suculentas Mexicanas*, 39, 36-42.
 26. EGGLE, U., R. NYFFELER, 1998, Proposal to conserve *Parodia* against *Frailea*, *Taxon* 47, 475-476.
 27. FESZT, G., L. MIHALTE, 2009, An evaluation of health of cactus collection available in botanical garden of Cluj-Napoca, Romania, *Journal of Applied Horticulture*, 11:2, 146-149.
 28. FLEMING, T.H., J.N. HOLLAND, 1998, The evolution of obligate pollination mutualisms: senita cactus and senita moth, *Oecologia*, 114, 368-375.
 29. FLEMING, T.H., S. MAURICE, S.L. BUCHMANN, M.D. TUTTLE, 1994, Reproductive biology and relative fitness in a trioecious cactus, *Pachycereus pringlei* (Cactaceae), *American Journal of Botany*, 81, 858-867.
 30. GIBSON A.C., P.S. NOBEL, 1986, The cactus primer, *Harvard University Press, Cambridge*, 188-206.
 31. GIBSON A.C., P.S. NOBEL, 1986, The cactus primer, *Harvard University Press, Cambridge*, 188-206.
 32. GODINEZ-ALVAREZ, H., 2004, Pollination and seed dispersal by lizards: a review, *Revista chilena de historia natural*, 77, 569-577.
 33. GODINEZ-ALVAREZ, H., P. ORTEGA-BAES, 2007, Mexican cactus diversity: environmental correlates and conservation priorities, *Bol. Soc. Bot. Mex.*, 81, 81-87.
 34. GÖTZ, G., E. GRÖNER, 1998, *Schöne Kakteen*, Ed. Ulmer, Stuttgart.
 35. GRANDET, G., 1995, Quelques observations sur des semis comparatifs de CacteHes, *Cactus-Aventures International*, 26, 7-10.
 36. GRAYUM, M.H., 1991, Systematic embryology of the *Araceae*, *Botanical Review*, 57, 167-203.
 37. GUILLEMAUT, P., L. MARECHAL DROUARD, 1992, Isolation of plant DNA: a fast, inexpensive and reliable method, *Plant Mol. Biol. Repr.*, 10, 60-65.
 38. HOLLAND, J.N., T.H. FLEMING, 1999, Mutualistic interactions between *Upiga virescens* (Pylalidae), a pollinating seed-consumer, and *Lophocereus schottii* (Cactaceae), *Ecology*, 80, 2074-2084.
 39. HUNT, D. 1999, CITES. *Cactaceae* checklist. *Royal Botanic Gardens Kew and International*.
 40. HUNT, D., N. TAYLOR, G. CHARLES, 2006, The cactus lexicon. *DH Books, Milborne Port, UK*.

41. IBARRA-CERDEÑA, C.L., D. ÑIGUEZ-DÁVALOS, V. SÁNCHEZ-CORDERO, 2005, Pollination ecology of *Stenocereus queretaroensis* (Cactaceae), a chiropterophilous columnar cactus, in a tropical dry forest of Mexico, *American Journal of Botany*, 92, 503-509.
42. IUCN, The International Union for Conservation of Nature, <http://www.iucn.org/>.
43. JOHNSON, R., 1992, Pollination and reproductive ecology of Acuña cactus, *Echinomastus erectocentrus* (Cactaceae), *International Journal of Plant Sciences*, 153, 400-408.
44. KOHLSCHREIBER, D., 1998, Soil mixes for epiphytic cacti, *Cactus and Succulent Journal*, 70:3, 12-13.
45. KRAINZ, H., 1967, Die Kakteen: eine Gesamtdarstellung der eingeführten Arten nebst Anzucht- und Pflege-Anweisungen, *Franckhsche Verlagshandlung, Stuttgart*.
46. LABRA, M., F. GRASSI, M. BARDINI, S. IMAZIO, A. GUIGGI, S. CITTERIO, E. BANFI, S. SGORBATI, 2003, Genetic relationships in *Opuntia* Mill. genus (Cactaceae) detected by molecular marker, *Plant Science* 165, 1129-1136.
47. LAS PEÑAS, M.L., G. BERNARDELLO, R. KIESLING, 2008, Karyotypes and fluorescent chromosome banding in *Pyrrhocactus* (Cactaceae), *Pl. Syst. Evol.*, 272, 211-222.
48. LEUENBERGER, B.E., 2002, The type specimen of *Opuntia cardiosperma* (Cactaceae), new synonyms and new records from Argentina and Paraguay, *Willdenowia* 31, 171-179.
49. LICHTENZVEIG, J., S. ABBO, A. NERD, N. TEL-ZUR, Y. MIZRAHI, 2000, Cytology and mating systems in the climbing cacti *Hylocereus* and *Selenicereus*, *American Journal of Botany*, 87, 1058-1065.
50. LINSKENS, F.H., 1983, Pollination processes: Understanding fertilization and limits to hybridization. In: Meudt, G.W.J. Eds., *Strategies of Plant Reproduction, Beltsville Symposium in Agricultural Research. Allanheld, Osmund/Granada, London*, 35-49.
51. LODHI, M.A., G.N. YE, N.F. WEEDEN, B.I. REISCH, 1994, A simple and efficient method DNA extraction from grapevine cultivars and vitis species, *Plant Molecular Biology Reporter*, 12, 6-13.
52. MANDUJANO, M., C.C. MONTANA, I. MENDEZ, L. EGUIARTE, 1996, Reproductive ecology and inbreeding depression in *Opuntia rastrera* (Cactaceae) in the Chihuahuan Desert. Why are sexually derived recruitments so rare?, *American Journal of Botany*, 83, 63-70.
53. MARTÍNEZ-PERALTA, C., 2007, Biología floral de *Ariocarpus fissuratus* (Engelmann) Schumann (Cactaceae) en Cuatro Ciénegas, Coahuila, Mexico, *BSc Thesis, Universidad Nacional Autónoma de México*.
54. MCFARLAND, J.D., P.G. KEVAN, M.A. LANE, 1989, Pollination biology of *Opuntia imbricata* (Cactaceae) in southern Colorado, *Canadian Journal of Botany*, 67, 24-28.
55. MCINTOSH, M.E., 2002, Plant size, breeding system, and limits to reproductive success in two sister species of *Ferocactus* (Cactaceae), *Plant Ecology*, 162, 273-288.
56. MÉNDEZ, M., R. DURÁN, A. DORANTES, G. DZIB, L. SIMÁ, P. SIMÁ, R. ORELLANA, 2005, Floral demography and reproductive system of *Pterocereus gaumeri*, a rare columnar cactus endemic to Mexico, *Journal of Arid Environments*, 62, 363-376.
57. METCALFE, C.R., L. CHALK, 1950, Anatomy of the Dicotyledons, Vol. II. *Clarendon Press, Oxford*.
58. MIHALTE, L., G. FESZT, A. BACIU, A. VÎLCAN, 2010, Phylogenetic distances among several genotypes of *Rebutia*, *Mediolobivia*, and *Sulcorebutia* (Cactaceae), *International Journal of Botany (on-line)*.
59. MOURELLE, C., E. EZCURRA, 1996, Species richness of Argentine cacti: a test of biogeographic hypotheses, *J Veg Sci*, 7, 667-680.
60. MOURELLE, C., E. EZCURRA, 1997, Differentiation diversity of Argentine cacti and its relationship to environmental factors, *J. Veg. Sci.*, 8, 547-558.
61. NASSAR, J.M., J.L. HAMRICK, T.H. FLEMING, 2002, Allozyme diversity and genetic structure of the leafy cactus (*Pereskia guamacho* [Cactaceae]), *J. Hered*, 93, 193-200.
62. NASSAR, M., J.N. RAMIREZ, O., LINARES, 1997, Comparative pollination biology of Venezuelan columnar cacti and the role of nectar-feeding bats in their sexual reproduction, *American Journal of Botany*, 84, 918-927.
63. NEGRÓN-ORTIZ, V., 2007, Chromosome numbers, nuclear DNA content, and polyploidy in *Consolea* (Cactaceae), an endemic cactus of the caribbean islands, *American Journal of Botany*, 94:8, 1360-1370.
64. NERD, A., Y. MIZRAHI, 1997, Reproductive biology of cactus fruit crops, *Horticultural Reviews*, 16, 321-346.
65. NOBEL, P.S., 2002, Cacti, Biology and Uses, *Cambridge University Press, New York*.
66. NYFFELER, R., 2002, Phylogenetic relationships in the cactus family (Cactaceae) based on evidence from trnK/matK and trnL/trnF sequences, *American Journal of Botany* 89, 312-326.
67. OAXACA-VILLA, B., A. CASAS, A. VALIENTE-BANUET, 2006, Reproductive biology in wild and silvicultural managed populations of *Escontria chiotilla* (Cactaceae) in the Tehuacán Valley, Central Mexico, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53, 277-287.
68. OLDFIELD, S., 1997, Cactus and succulent plants: status survey and conservation action plan. *International Union for Conservation of Nature and Natural resources, Gland, Switzerland, and Cambridge, UK*.
69. ORTEGA, C.M.M., 1993, Diferenciación de los gametofitos masculino y femenino en pitayo (*Stenocereus*

- queretaroensis* (Weber) Buxbaum) y su relacion con aspectos evolutivos, *Bachelor's Thesis, Universidad de Guadalajara, Mexico*.
70. ORTEGA-BAES, P., H. GODINEZ-ALVAREZ, 2006, Global diversity and conservation priorities in the *Cactaceae*, *Biodivers Conserv* 15, 817-827.
 71. ORTEGA-BAESA, P., M. ROJAS-ARÉCHIGAB, 2007, Seed germination of *Trichocereus terscheckii* (*Cactaceae*): Light, temperature and gibberellic acid effects, *Journal of Arid Environments*, 69:1, 169-176.
 72. PALOMINO, G., J. DOLEZEL, R. CID, I. BRUNNER, I. MENDEZ, A. RUBLUO, 1999, Nuclear genome stability of *Mammillaria san-angelensis* (*Cactaceae*) regenerants induced by auxins in long term in vitro culture, *Plant Science*, 141, 191-200.
 73. PETERS, R.R. (1998). Growing plants in low-organic soil-based mixes. *Cactus and Succulent Journal*, 70:3, 10-11.
 74. PILBEAM, J., 1997, The cactus file handbook 2, *Rebutia*, *Ciro Publishing Services Ltd.* 73-87.
 75. PILBEAM, J., D. HUNT, 2004. A Sulco Gallery, *Milborne Port: Dh Books*.
 76. PIMIENTA-BARRIOS, E., P.S. NOBEL, 1995, Reproductive characteristics of pitayo (*Stenocereus queretaroensis*) and their relationships with soluble sugars and irrigation, *J. Am. Soc. for Horti.Sci.*120, 1082-1086.
 77. PIMIENTA-BARRIOS, E., R.F. DEL CASTILLO, 2002, Reproductive biology. In: *Nobel, P.S. Eds, Cacti: biology and uses. University of California Press, Berkeley*, 75-90.
 78. POP R., M. ARDELEAN, P. RAICA, I.M. GABOREANU, D. PAMFIL, 2004, Determinarea polimorfismului la nivel molecular a cultivarelor de viță de vie de la ICDVV Valea Călugărească, cu ajutorul analizelor RAPD., *Simpozionul Național ICDVV Valea Călugărească*.
 79. PUNT W., S. BLACKMORE, S. NILSSON, A. LE THOMAS, 1994, Glossary of Pollen and Spore Terminology, *LPP Foundation, University of Utrecht, The Netherlands*.
 80. RAMAWAT, K.G., 2010, Desert Plants. *Springer Heidelberg Dordrecht, London*.
 81. RAMIREZ, G., C. AGUILAR, 1995, The effect of *Opuntia* in lowering serum glucose among NIDDM patients, A systematic review-preliminary findings, In *Proceedings: I Conference of the Professional Association for Cactus Development, Kingsville, Texas*, 71-78.
 82. RAUSCH, W., F. RITTER, 1985, Die Kakteen, *Ed. Selbstverlag*.
 83. REMSKI M.F., 1954, Cytological investigations in *Mammillaria* and some associated genera, *Botanical Gazette*, 116:2, 163-171.
 84. RITZ, C.M., L. MARTINS, R. MECKLENBURG, V. GOREMYKIN, F.H. HELLWIG, 2007, The molecular phylogeny of *Rebutia* (*Cactaceae*) and its allies demonstrates the influence of paleogeography on the evolution of South American mountain cacti, *American Journal of Botany*, 94:8, 1321-1332.
 85. RIVERA-MARCHAND, B., J.D. ACKERMAN, 2006, Bat pollination breakdown in the Caribbean columnar cactus *Pilosocereus royenii*, *Biotropica*, 38, 635-642.
 86. ROJAS-AREHCHIGA, M., C. VAHZQUEZ-YANES, 2000, Cactus seed germination: a review, *Journal of Arid Environments*, 44, 85-104.
 87. ROSAS, C.M.P., E., PIMIENTA, 1986, Polinizacion y fase progamica en nopal (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller), *Tunero Fitotecnica*, 8, 164-176.
 88. SANCHEZ-SOTO, B., A. REYES-OLIVAS, E. GARCIA-MOYA, T. TERRAZAS, 2010, Germination of three cacti inhabiting the coastal region in Northwestern Mexico, *Interciencia*, 35:4, 299-305.
 89. SOSA, R., C.A. ACOSTA, 1966, Poliploidia en *Opuntia* spp., *Agrociencia*, 1:1, 100-106.
 90. STRONG, A.W., P.S. WILLIAMSON, 2007, Breeding system of *Astrophytum asterias*: an endangered cactus, *Southwest Naturalist*, 52, 341-346.
 91. TERRAZAS-SALGADO, T., J.D. MAUSETH, 2002, Shoot anatomy and morphology. In: *P.S. Nobel Eds, Cacti.Biology and uses, University of California Press, Los Angeles*, 125-141.
 92. TINGEY, S.V., J.P. DEL TUFO, 1993, Genetic analysis with Random AmplifiedPolymorphic DNA, *Plant Physiol.* 101, 349-352.
 93. VALDEZ, B., Z. DIAZ LIFANTE, M. MARTIN CACAO, 1992, The introduction of American species through Seville past and present, *Museologica Scientifica*, IX, 277-292.
 94. VALIENTE-BANUET, A., M.C. ARIZMENDI, A. ROJAS-MARTÍNEZ, C. CASAS, C. SILVA, P. DÁVILA, 2002, Biotic interactions and population dynamics of columnar cacti. In: *Fleming, T.H. and A. Valiente-Banuet Eds., Columnar cacti and their mutualists: evolution, ecology and conservation, The Univ. AZ Press*, 225-240.
 95. WIESS, J., A. NERD, Y. MIZRAHI, 1993, Vegetative parthenocarpy in the cactus pear *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill, *Annals of Botany*, 72, 521-526.
 96. WILLIAMS, J.G.K., A.R. KUBELIK, K.J. LIVAK, J.A. RAFALSKI, S.V. TINGEY, 1990 - DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers, *Nucleic Acids Res.*, 18, 6531-6535.
 97. WYATT, R., 1983, Pollinator-plant interactions and the evolution of breeding systems. In: *Real L.A. Eds., Pollination Biology, Orlando: Academic Press*, 51-95.
 98. ZAK, M.R., M. CABIDO, J.G. HODGSON, 2004, Do subtropical seasonal forests in the Gran Chaco, Argentina, have a future?, *Biol Conserv* 120, 589-598.