
TEZA DE DOCTORAT

Cercetări privind influența unor substanțe bioactive asupra germinării semințelor, iernării și producției la rapiță (REZUMAT)

Doctorand: **Katalin MOLNÁR**

Conducător de doctorat: **Prof. dr. Matei Marcel DUDA**



1. INTRODUCERE

La nivel mondial, rapița este a treia cea mai importantă cultură oleaginoasă, ca și suprafață, după soia și bumbac (FAOSTAT). Ea poate fi utilizată ca furaj pentru animale, ca hrană pentru oameni sau ca sursă de biocombustibil. În plus, includerea rapiței în structura de culturi (în asolament) este un element important al bunelor practici agricole având efecte benefice și asupra fertilității solului. În Europa, cultivarele de rapiță de toamnă sunt mai răspândite decât cele de primăvară. Cele mai mari producții, de 3,3 - 4,3 t ha⁻¹, fiind obținute în Europa Centrală și de Vest (FRIEDT și colab., 2018).

Datorită interesului manifestat de industrie față de această cultură, rapița a devenit o plantă de importanță strategică. Prețul de achiziție stimulat, introducerea soiurilor și hibrizilor de mare productivitate și a tehnologiilor moderne de cultură a crescut simțitor rentabilitatea acestei culturi. Se poate observa că suprafețele cultivate cu rapiță au cunoscut fluctuații mari de la o perioadă la alta. Cea mai frecventă cauză de risc pentru culturi în condiții de câmp o reprezintă combinația mai multor factori de stres abiotici care apar simultan. Inițiativele viitoare de cercetare cu scopul de a crea plante de cultură cu o toleranță îmbunătățită la condițiile de mediu ar trebui să se concentreze pe toleranța la o varietate de condiții de stres (în special cele care reflectă condițiile de mediu din câmp) (MITTLER, 2006; SUZUKI și colab., 2014).

Studiile au confirmat efectele pozitive ale imersării semințelor în diferite soluții bioactive asupra proceselor de germinare, precum și asupra dezvoltării timpurii a plantelor. Majoritatea acestor studii au fost efectuate într-un mediu controlat, cum ar fi în camere de creștere sau în sere (FODORPATAKI și colab., 2019; ZHU și colab., 2021). Când semințele sunt imersate, se creează o situație fiziologică care stimulează germinația și îmbunătățește răsărirea uniformă a plântuțelor (prin modificarea hormonilor, a activităților metabolice, a latenței și a permeabilității membranei) (JISHA și colab., 2013; ABOUTALEBIAN și NAZARI 2017; AYMEN 2018; BOSE și colab., 2018). Aplicarea exogenă a diverselor substanțe bioactive în zona frunzelor și/sau imersarea semințelor stimulează rezistența biotică și abiotică a plantelor prin îmbunătățirea activității sistemului de apărare antioxidantă și a osmoprotecției, precum și prin controlul proteinelor legate de stres. În plus, substanțele bioactive îmbunătățesc fotosinteza, eficiența absorbției de nutrienți, modificările hormonale din plante, productivitatea și calitatea culturilor (WAQAS și colab., 2019; ZULFIQAR, 2021).

2. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE TEZEI DE DOCTORAT

Scopul principal al cercetărilor este perfecționarea tehnologiei de cultivare a rapiței și anume creșterea toleranței plantelor la stresul abiotic, prin efectuarea de tratamente cu substanțe bioactive aplicate la sămânță și pe plante în diferite fenofaze, în vederea obținerii de rezultate favorabile la germinarea semințelor, o toleranță mai bună la frig și, în final, o creștere a capacității de producție a culturii de rapiță în condițiile pedoclimatice din estul Câmpiei Transilvaniei.

Obiectivele cercetărilor sunt rezumate sintetic mai jos:

1. indentificarea substanțelor bioactive și a efectelor fiziologice/biochimice ale acestora, utilizate ca agenți de precălire;
2. stabilirea concentrațiilor minime eficiente ale acestora;
3. perfecționarea modului de lucru/aplicare a tratamentelor;
4. verificarea în condiții de teren a efectului acestor tratamente.

Figurile sumarizează metodele utilizate în cadrul experimetelor de laborator (Fig 1) și ale experiențelor de câmp (Fig 2).

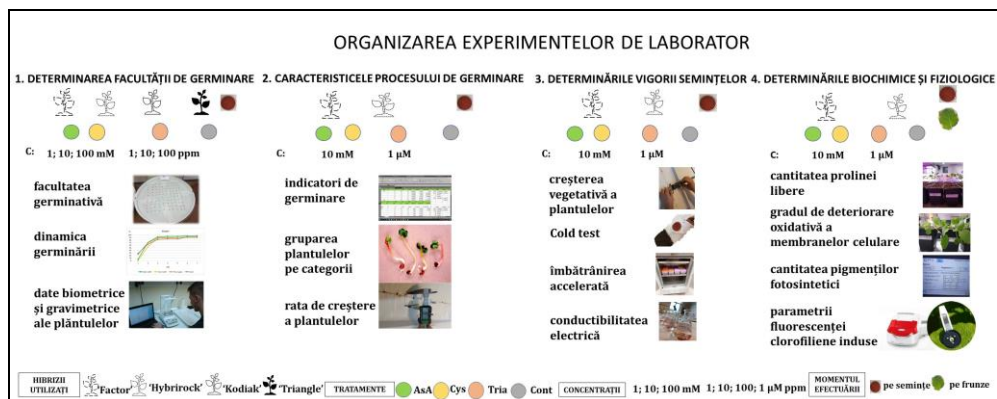


Fig. 1. Schița de organizare a experimentelor de laborator (original)

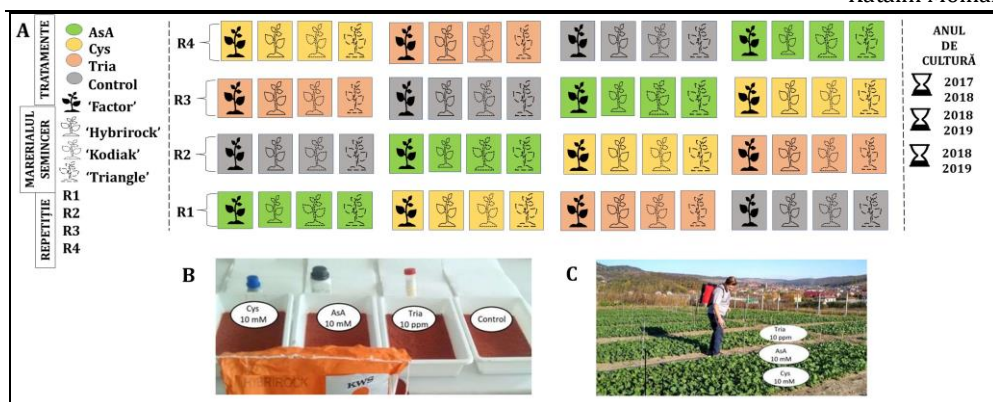


Fig. 2. Tratamentele aplicate și designul experimental

(A) Schema experimentală: hibridii de rapiță în cadrul tratamentelor pe parcursul a trei ani de studiu;

(B, C) Aspecte ale tratamentelor aplicate la semințe și pe vegetație (original)

3. STRUCTURA TEZEI

Prima parte, studiul de literatură, cuprinde capitolele 1-2 și abordează aspecte teoretice generale legate de factorii care îngreunează cultivarea rapiței de toamnă și rezultatele cercetărilor privind utilizarea substanțelor bioactive.

Lucrarea își prezintă contribuțiile personale în capitolele 3-6. Experimentul este împărțit în două părți de bază, una de laborator și una în câmp. Capitolul 3 descrie materialele și metodele utilizate în experiment, inclusiv metodele de testare de laborator și organizarea și implementarea experiențelor de câmp, precum și analizele statistice. Capitolul 4 conține rezultatele experimentelor de laborator și câmp privind tratamentele cu substanțe bioactive. Capitolul 5 conține concluzii și recomandări, în timp ce Capitolul 6 sintetizează noile rezultate științifice ale lucrării.

4. CONTIBUȚIA PERSONALĂ

4.1. Materiale și metode de lucru

În acest studiu au fost folosite semințe de la patru hibridi de rapiță de toamnă (*Brassica napus* L.), (Factor- H1, Hybrirock- H2, Kodiak- H3, Triangle- H4), furnizate de KWS România.

Faza de laborator a cercetărilor a fost efectuată utilizând infrastructura educațională a Facultății de Științe Tehnice și Umaniste Târgu Mureș (inclusiv Centrul de Studiu Sfântu Gheorghe) din cadrul Universității Sapientia.

A fost examinat efectul substanțelor bioactive selectate (acid ascorbic – AsA în concentrațiile de 1, 10, și 100 mM, L-cisteină – Cys în concentrațiile de 1, 10, și 100mM și triacontanol – Tria în concentrațiile de 1, 10, și 100 ppm) asupra capacității de germinare, dinamica germinației și parametrilor biometrici ai plantulelor. Semințele au fost pretratate timp de 24 de ore și apoi au fost puse la germinat în condiții de laborator. Scopul cercetării a fost determinarea celei mai mici concentrații eficiente.

După analizarea rezultatelor provenite din primele experiențe, a fost schimbată concentrația triacontanolului (1 μ M), deoarece rezultatele din teren nu au confirmat concentrația de 10 ppm ca fiind eficientă. Concentrațiile de acid ascorbic și cisteină nu s-au schimbat. La aceste experimente de laborator am lucrat cu doi hibrizi, din cauza schimbărilor rapide de pe piața semințelor, doi hibrizi nu mai erau disponibili la furnizorul de semințe. Mai departe, în a două parte a experiențelor de laborator, am efectuat și diverse determinări și analize de germinare și fiziologice mai detaliate pe materialul biologic selectat.

În timpul monitorizării procesului de germinare, m-am concentrat pe parametri precum procentul de germinare, timpul mediu de germinare, indicele de germinare, uniformitatea germinării și creșterea rădăcinilor și a tulpinilor de plante germinate.

În ceea ce privește testele de vigoare, am investigat efectul tratamentelor folosind testele de vigoare recomandate de Asociația Internațională de Testare a Semințelor (ISTA) (testul de creștere a plantulelor după germinare, Cold testul, testul de îmbătrânire accelerată și testul de conductivitate electrică).

În cadrul studiilor biochimice și fiziologice am investigat eficiența substanțelor de tratament pentru contracararea tratamentelor de frig artificial aplicate, monitorizând nivelul de prolină, conținutul malondialdehidei (MDA), pigmenții fotosintetici și parametrii de fluorescență clorofiliană.

Pentru testarea rezultatelor de laborator în condiții de câmp am aplicat un studiu de teren de trei ani, cu tratamentele aplicate la concentrațiile stabilite inițial (10 mM AsA și Cys și 10 ppm Tria), cu patru hibrizi, în doi ani de vegetație și doi hibrizi în ultimul an de vegetație. Substanțele bioactive au fost aplicate în trei momente diferite: tratamentul semințelor, aplicare foliară la începutul perioadei vegetative din toamnă și la începutul primăverii. Parametrii de creștere și de randament au fost înregistrați în diferite stadii de dezvoltare a plantelor: toamna (în stadiul timpuriu de vegetație), primăvara și la recoltare. Experiențe de câmp care stau la baza prezentei teze de doctorat au fost efectuate în perioada 2017 - 2020 în condițiile specifice ale agrofondului situat în cadrul Bazei Dactico-Experimentale de la Târgu Mureș a Universității Sapientia.

4.2. Rezultate și discuții

Analizele statistice au fost efectuate în programul PAST, versiunea 3.06 și cu ajutorul programului SPSS (versiunea 27).

4.2.1. Rezultatele experimentelor de laborator

Rezultatele experimentelor de germinare

În literatura de specialitate, mai multe cercetări confirmă efectul stimulator al acidului ascorbic (AsA) (AFZAL și colab., 2006; DRAGANIC și LEKIĆ 2012; ORTIZ_ESPIN și colab., 2017), cisteinei (Cys) (NASIBI și colab., 2016) și triacontanolului (Tria) (PERVEEN și colab., 2012; CHANDRA și ROYCHOUDHURY 2020; BHANDARI și colab., 2021) asupra germinării, dar concentrațiile acestor substanțe diferă foarte mult în funcție de cultura de plante și de factorii de stres implicați.

La tratamentele aplicate, în majoritatea cazurilor, am decis să utilizăm concentrațiile de 10 mM pentru AsA și Cys și 10 ppm pentru Tria. Decizia noastră a fost confirmată de experimentele asupra dinamicii germinării, unde concentrațiile de 10 mM/ppm au asigurat o germinare mai rapidă în fiecare caz. După primul an de experiment de câmp, am constatat că, în cazul Tria, concentrația folosită (10 ppm) nu a fost cea mai potrivită, așa că am continuat cercetările cu o concentrație mai mică de 1 μM pentru Tria în faza de laborator.

Rezultatele privind procesul germinării

Nu doar procentul final de germinare obținut reprezintă un aspect important, ci și alți parametri de germinare, precum timpul mediu de germinare, indicele de germinare, coeficientul vitezei de germinare, indicele de sincronizare a germinării și indicele de incertitudine a procesului de germinare, care sunt adesea utilizați pentru a evalua relevanța agronomică a tratamentelor (AL-MUDARIS, 1998).

În general, se poate spune că imersarea semințelor cu acid ascorbic (AsA) a dat cele mai bune rezultate la hibridul de rapiță 'Factor', conform indicatorilor timpul mediu de germinare (MGT), indicele de germinare (GI), coeficientul vitezei de germinare (CVG), indicele ratei de germinare (GRI) și indicele de sincronizare a germinării (Z). Pe locul al doilea se situează imersarea în soluție de triacontanol (Tria), în timp ce rezultatele tratamentelor cu L-cisteină (Cys) sunt mai slabe în comparație cu martorul. Semințele de 'Hybrirock' au răspuns mai bine la tratamentele cu Tria, urmate de imersarea cu AsA și Cys.

Rezultatele privind vigoarea semințelor

Testarea creșterii plantulelor tinere permite observarea lor în diferite zile, pentru a determina care dintre tratamente accelerează germinarea și care produc o creștere mai rapidă. În acest sens, în cazul ambilor hibrizi, Tria s-a dovedit a fi cel mai eficient tratament.

În timpul Cold testelor, capacitatea de germinare a fost redusă în fiecare caz. Acest lucru se datorează esenței metodei, deoarece testăm germinarea în condiții de stres. Esența metodei constă tocmai în evaluarea gradului de reducere a germinării, a

Cercetări privind influența unor substanțe bioactive asupra germinării semințelor, iernării și producției la rapiță

germinării în condiții de stres. Prin urmare, beneficiul tratamentelor aplicate materialului supus Cold testului reprezintă un avantaj. În fiecare caz tratamentele au reușit să contracareze efectul de frig.

În timpul testului de îmbătrânire accelerată, capacitatea de germinare a scăzut în toate cazurile, în special la hibridul 'Hybrirock'. Păstrarea umidității ridicate și a temperaturii ridicate, utilizate în timpul îmbătrânirii accelerate, reprezintă condiții puternice de stres pentru sămânță, simulând efecte fiziologice care apar în timpul depozitării prelungite. Impactul pozitiv al tratamentelor asupra vitalității semințelor a fost, de asemenea, demonstrat în timpul testelor de îmbătrânire accelerate, cu accent mai mare asupra hibridului 'Hybrirock', tratat cu AsA și Cys. Observațiile lui BASKIN (1970) arată că îmbătrânirea accelerată poate fi utilizată și ca indicator al comportamentului în câmp, ceea ce este susținut și de propriile mele rezultate.

În urma testărilor de conductivitate electrică, doar tratamentul cu AsA a indicat o vigozitate mai mare la hibridul 'Factor', comparativ cu martorul. Cu toate acestea, tratamentele aplicate asupra probelor de semințe pot pune la îndoială rezultatul testului. Cu 24 de ore înainte de fiecare măsurare, probele au fost imersate în diferite soluții sau în apă curată, proces în care ionii au difuzat prin tegumentul seminței. Aceasta ar fi putut cauza o difuziune perturbată de ioni în soluția testată la următoarea imersare.

Rezultatele privind determinările biochimice și fiziologice

Prolina liberă foliară ca marker biochimic al tolereanței hibridului de rapiță față de stresul de frig

Producerea crescută de prolina este strâns legată de stresul osmotic. Creșterea puternică a prolinei este observată, de obicei, în cazul stresului de lipsă de apă. Din literatura de specialitate, se știe că nivelul său crește ca răspuns la stres în plante, pentru a-și îndeplini funcția de protecție (ASHRAF și FOOLAD 2007). Numeroase studii au stabilit o legătură între acumularea de prolina și toleranța la stres (NAYYAR 2003).

Am avut ca scop să examinăm nivelul de acumulare a prolinei în plantele tratate cu AsA, Cys și Tria, în condiții de stres de frig, și să găsim o legătură între sensibilitatea la secetă și acumularea de prolină. Observând variația conținutului de prolină în funcție de hibrid, am constatat că ambii hibridi de rapiță au avut o creștere semnificativă a conținutului de prolină liberă în frunze sub efectul stresului de frig/osmotic, datorită tratamentului cu cele trei substanțe bioactive.

La plantele netratate, nivelul de prolina a fost scăzut, iar creșterea nivelului de prolina a fost mult mai puternic stimulată de tratamentele aplicate la 'Factor' decât la hibridul 'Hybrirock'.

Se presupune că hibridul 'Factor' este mai puțin sensibil la frigul cu durată de o săptămână. În funcție de efectul asupra conținutului de prolină din frunze, se poate concluziona că la hibridul mai puțin tolerant la frig (Hybrirock), cele trei substanțe

active cresc semnificativ acumularea de prolină liberă în prezența temperaturilor scăzute.

Peroxidarea lipidelor membranare în frunzele plantelor de rapiță expuse la stresul de frig

Malondialdehida este principalul marker utilizat pentru monitorizarea peroxidării lipidelor din membrane, iar concentrația acestui marker este direct proporțională cu gradul de afectare oxidativă a lipidelor din membranele celulare. Gradul de peroxidare a lipidelor a avut valori semnificativ mai ridicate în plantele stresate de frig, în comparație cu plantele martor. În același timp, tratamentele cu AsA, Cys și Tria au putut reduce concentrația MDA la aceeași valoare cu a grupului de martor. Stresul de frig aplicat timp de o săptămână a avut un efect mai redus asupra deteriorării membranei prin peroxidarea lipidică la 'Factor' decât la 'Hybrirock'. Indiferent de sensibilitatea hibridului, tratamentele cu substanțe bioactive au redus semnificativ cantitatea de malondialdehidă toxică.

Concentrația pigmentilor clorofilieni și carotenoidici în frunzele afectate de stresul de frig

MAJIDI și colab. (2015) atrag atenția asupra faptului că la speciile de Brassica modificarea conținutului de clorofilă poate fi considerată un element esențial în aprecierea toleranței la secetă. Scăderea conținutului de clorofilă apare, nu atât ca rezultat al degradării, ci mai degrabă ca rezultat al inhibării sintezei acesteia (GARCÍA-VALENZUELA și colab., 2005). Conform studiului nostru măsurătorile fluorescenței clorofiliene au demonstrat și faptul că în cazul a doi hibridi de rapiță de toamnă temperatura scăzută a provocat reducerea activității fotosintetice, constatare confirmată și de către DOGRU și ÇAKIRLAR (2020).

Conținutul de clorofilă-a și -b, precum și eficiența utilizării luminii a fost mai mare la rapița tolerantă la frig în comparație cu cea sensibilă. În plantele considerate mai sensibile la frig (hibridul Factor), s-a observat o scădere a conținutului de clorofilă ca urmare a expunerii la temperaturi scăzute, în timp ce în hibridul mai tolerant la frig (hibridul Hybrirock) s-a înregistrat o creștere ușoară. În timpul expunerii la frig, tratamentele cu AsA și Cys au redus cel mai mult conținutul de clorofil-a și clorofil-b.

În studiul nostru, tratamentul cu acid ascorbic (AsA) și cisteină (Cys) asociat cu efectul de răcire a determinat o scădere suplimentară a conținutului total de clorofilă (clorofil a+b) la hibridul 'Hybrirock', în timp ce la hibridul 'Factor' aceste două substanțe bioactive au contracarat în mare măsură scăderea cauzată de efectul de răcire, conducând la conținuturi de clorofilă mai apropiate de martor.

În cazul expunerii la frig creșterea raportului clorofila a/b în comparație cu martorul s-a observat numai în cazul tratamentului cu cisteină (Cys) la hibridul 'Factor'. Dintre substanțele active utilizate, cisteina a avut cel mai mic impact asupra raportului clorofil a/b în frunzele plantelor tratate la frig.

Carotenoizii joacă un rol important în primul rând ca fotoprotectori în situații în care condițiile de mediu sunt nefavorabile și îngreunează utilizarea energiei fotonice VIII

absorbite, iar în astfel de situații cantitatea lor poate crește ca răspuns de apărare la un potențial pericol fotooxidativ.

Creșterea nivelului de carotenoizi la expunerea la frig poate fi legată de capacitatea mai mare de toleranță la temperaturi scăzute a hibridului de rapiță 'Hybrirock', iar tratamentul cu cisteină (Cys) a redus efectul fotooxidativ indus de temperatura scăzută, conform rezultatelor obținute.

Rezultatele măsurătorilor arată că conținutul de pigmenți carotenoizi în frunzele hibridului 'Factor' este de aproximativ cinci ori mai mare decât în cazul hibridului 'Hybrirock', ceea ce conferă o protecție mai mare împotriva efectelor stresului oxidativ în aparatul fotosintetic al hibridului 'Factor'.

Parametrii fluorescenței clorofilene induse în frunzele intacte ale plantelor expuse de stresul de frig

La ambii hibrizi, valorile măsurate la parametrii Fluorescența de bază (Fo), Fluorescența de echilibru (Fs) și Anihilarea non-fotochimică a fluorescenței clorofilene (NPQ) sunt semnificativ mai mari în plantele expuse la frig, comparativ cu plantele martor. Pentru a compensa acest efect, tratamentele aplicate au fost eficiente în măsură diferită.

Aplicarea cisteinei (Cys) a redus valorile fluorescenței clorofilene de bază chiar sub valorile înregistrate la plantele martor. La hibridul 'Factor' creșterile valorii Fo sunt mai pronunțate decât la 'Hybrirock', ceea ce indică o sensibilitate mai mare la frig în privința acumulării energiei fotonice.

Cisteina (Cys) și triacontanolul (Tria) reușesc să mențină valorile nivelului fluorescenței de echilibru în zona celor înregistrate la plantele martor, anihilând complet efectele temperaturii scăzute.

Datorită faptului că substanțele bioactive utilizate (AsA, Cys, Tria) au reușit ca la temperatură joasă să îmbunătățească gradul utilizării fotochimice a energiei luminoase absorbite, o cantitate mai mică de energie nefolosită a fost transformată în energie calorică, astfel datorită tratamentelor, anihilarea non-fotochimică a fluorescenței clorofilene a avut valori mult mai reduse în condiții de frig.

La ambii hibrizi valorile măsurate la parametrii Fm (fluorescența maximă), Fm' (fluorescența maximă modulată), Fv/Fm (randamentul cuantic potențial), ΦPSII (randamentul cuantic efectiv) și Rfd (indicele de vitalitate a aparatului fotosintetic) sunt semnificativ mai mici în plantele expuse la efectele de frig, comparativ cu plantele martor. Pentru a compensa aceste efecte, tratamentele aplicate au fost eficiente în măsură diferită.

În urma expunerii la frig transportul de electroni în regiunea acceptoare a PSII a fost încetinită și nici una dintre substanțele bioactive utilizate nu a reușit să readucă valorile fluorescenței maxime (Fm) la nivelul caracteristic variantei martor.

La plantele de rapiță expuse frigului este atenuat parțial acest stres de tratamentele cu acid ascorbic (AsA), cu cisteină (Cys) sau cu triacontanol (Tria) în cazul hibridului 'Factor', iar la 'Hybrirock' prin tratamente cu AsA și Cys.

Cisteina (Cys) anulează complet efectul negativ al temperaturii scăzute asupra raportului Fv/Fm (randamentul cuantic potențial). În cazul hibridului 'Hybrirock', scăderea Fv/Fm este anulată de toate cele trei tratamente cu substanțe bioactive naturale. Scăderea este mai evidentă la 'Factor' (de la valoarea de 0,85 la 0,75). Acest lucru sugerează o sensibilitate la frig mai pronunțată a hibridului 'Factor' în comparație cu 'Hybrirock'.

Anularea totală a efectului temperaturii scăzute a fost posibilă numai cu ajutorul cisteinei la parametru Φ PSII (randamentul cuantic efectiv).

În privința indicelui de vitalitate a aparatului fotosintetic (Rfd) din frunzele de rapiță se poate constata că tratamentul cu frig a cauzat o diminuare substanțială a acestuia, aproximativ la jumătate față de valorile martorului. Cisteina și triacontanolul pot preveni scăderea eficienței energetice a fotosintezei în situația dezvoltării plantelor în condiții de temperaturi scăzute.

Am constatat că 'Hybrirock' este mai puțin sensibil la efectele frigului, a arătat valori mai mici la mai mulți parametri comparativ cu 'Factor', dar tratamentele au putut reduce efectele negative la același nivel sau nivel similar. În ceea ce privește ordinea de eficiență a substanțelor de tratare stabilite pentru 'Factor', aceasta este Cys, AsA, Tria, iar pentru 'Hybrirock' este Cys, Tria, AsA.

4.2.2. Rezultatele experiențelor de câmp

Studiile efectuate în medii controlate au arătat că tratarea prealabilă a semințelor și tratamentele foliare cu diverse substanțe bioactive pot stimula germinația, răsărirea, apariția uniformă a plantelor, fotosinteza și eficiența absorbției de nutrienți și pot duce la creșterea productivității, a numărului de plante în cultură și a calității (AFZAL și colab., 2006; DRAGANIC și LEKIĆ 2012; GENISEL și colab., 2015; LUO și colab., 2022). Doar câteva studii oferă o perspectivă experimentală comparativă asupra utilizării substanțelor bioactive în cazul rapiței de toamnă cultivată în câmp (AHMADI și colab., 2016; RAZA și colab., 2017; ZHU și colab., 2021).

Scopul acestui studiu a fost de a investiga efectele imersării semințelor și ale tratamentului foliar cu ascorbat (AsA), cisteină (Cys) și triacontanol (Tria) asupra parametrilor de creștere și de producție a doi/patru hibridi de rapiță din cultură (Factor, Hybrirock, Kodiak și Triangle) în condiții de câmp, timp de trei ani agricoli, în condițiile temperat-continentale din Transilvania (zona Tîrgu-Mureș).

În general, lucrarea curentă arată că tratamentul semințelor cu 10mM acid ascorbic (AsA) și de cisteină (Cys) poate avea efecte benefice asupra dezvoltării plantelor, în timp ce aplicarea lor foliară poate spori numărul de silicve (NS), producția de semințe (SYP) și conținutul de ulei (OC) al hibridilor de rapiță studiate.

Nu toate substanțele care au fost supuse testelor de laborator au avut succes pe teren. În unele cazuri, Tria (10 ppm) nu a avut niciun efect asupra plantelor sau chiar s-a putut observa un efect negativ asupra unor parametri importanți pentru agricultură, cum ar fi randamentul estimat al semințelor (ESY), randamentul de semințe/plantă (SYP) și conținutul de ulei (OC).

Efectele AsA și Cys au putut fi observate pe tot parcursul sezonului de vegetație în cazul celor patru hibrizi, în timp ce efectele Tria au fost vizibile asupra parametrilor biometrici doar toamna și primăvara, precum și asupra parametrilor radiculari.

În general, 'Factor' și 'Hybrirock' au răspuns mai bine la tratamente decât 'Kodiak' și 'Triangle'. În plus, ordinea de eficacitate a tratamentelor pentru 'Factor' este Cys, AsA și Tria, în timp ce pentru 'Hybrirock', ordinea este AsA, Cys și Tria, iar la hibridii 'Kodiak', 'Triangle' efectul tratamentelor AsA și Cys este asemănător, după care urmează efectele Tria.

Testele statistice suplimentare asupra hibridilor 'Factor' și 'Hybrirock', testați în toți cei trei ani de vegetație au furnizat informații suplimentare.

Analizele factoriale au arătat dacă a existat o interacțiune între tratament și anul de cultură, respectiv tratament și hibrizi. Pentru aceste analize, au fost utilizate datele de la înălțimea plantelor la recoltare (PHH) și conținutul de ulei al semințelor (OC), deoarece ceilalți parametri nu au îndeplinit ipotezele necesare pentru testul ANOVA cu două căi.

Analiza statistică a confirmat că efectul tratamentului asupra înălțimii plantelor la recoltare (PHH) a fost influențat în mod semnificativ de condițiile meteorologice din perioadele de vegetație. Atunci când a fost examinat efectul tratamentului și al hibridului asupra PHH, s-a constatat că efectul tratamentului asupra PHH nu a fost influențat semnificativ de hibrid. În general, substanțele bioactive au avut un efect pozitiv asupra PHH în comparație cu culturile martor, dar PHH a depins mai mult de condițiile meteorologice și de hibrid decât de tratamentele aplicate.

Conform analizei factoriale, efectul tratamentului asupra conținutul de ulei al semințelor (OC) a fost semnificativ influențat de an și de hibrid. În general, AsA și Cys au avut un efect semnificativ pozitiv în comparație cu plantele de control și cu Tria.

S-a efectuat o analiză PCA pentru a determina corelația dintre indexul hidrotermic și precipitațiile medii lunare ca variabile de mediu cu parametrii studiați. În cazul 'Factor', indexul hidrotermic și cantitatea medie de precipitații au fost pozitiv corelate cu valorile PHH, producția de semințe per plantă (SYP), producția estimată de semințe (ESY), masa silicvelor per plantă (WS), fitomasa epigee (PFW), diametrul coletului (RND) și fitomasa hipogee (RFW). S-a observat o corelație negativă între condițiile meteorologice și parametrii a conținutului de ulei al semințelor (OC), înălțimea plantelor în toamnă (PHA), numărul de frunze per plantă (NL), masa a 1000 de boabe (TSW) și numărului silicvelor per plantă (NS). În cazul 'Hybrirock', parametrii

diametrul coletului (RND), fitomasa hipogee (RFW), lungimea rădăcinilor (RL) și numărul ramificațiilor pe plantă în primăvară (NBS) au fost negativ corelați cu cantitatea medie de precipitații și indexul hidrotermic, în timp ce parametrii producția de semințe per plantă (SYP), producția estimată de semințe (ESY), masa silicvelor pre plantă (WS), înălțimea plantelor la recoltare (PHH) și fitomasa epigee (PFW) au fost pozitiv corelați.

4.2.3. Analiza economică a variantelor experimentale

O perfecționare a tehnologiei de cultivare poate fi considerată reușită/corespunzătoare dacă elementele tehnologice introduse au o justificare economică.

Pe baza randamentelor estimate în urma experiențelor de câmp din cadrul cercetărilor, am efectuat o estimare a rentabilității, luând în considerare prețurile de achiziție a substanțelor bioactive utilizate în tratament și prețul de achiziție al rapiței pe piața mondială.

Există excedente de producție remarcabile datorită efectelor tratamentelor. În urma tratamentului cu AsA, se poate observa un excedent de producție de $0,80 \text{ t ha}^{-1}$ (1200 ron) la hibridii 'Factor', 'Hybrirock' și 'Triangle'. Tratamentele cu Cys s-au dovedit mai eficiente la hibridii 'Hybrirock', 'Kodiak' și 'Triangle', unde se poate vorbi despre un excedent de producție de aproximativ 2 t ha^{-1} (3500 RON). Tria a avut un efect mai redus și a fost mai eficient doar la un număr mai mic de hibridi, astfel încât producția estimată a crescut cu $0,4 \text{ t ha}^{-1}$ (430 RON) la hibridii 'Kodiak' și 'Triangle', în comparație cu varianta martor.

În cazul hibridilor 'Factor' și 'Hybrirock', tratamentul cu AsA pentru 'Factor' și tratamentele cu AsA și Cys pentru 'Hybrirock' au adus venituri suplimentare, luând în considerare media a trei ani de cultură. Analizând media rezultatelor pe doi ani pentru 'Kodiak' și 'Triangle', se poate observa că tratamentul Cys a fost cel mai profitabil pentru 'Kodiak', urmat de tratamentul cu Tria, iar pentru 'Triangle', toate cele trei tratamente au adus o diferență pozitivă în ceea ce privește eficiența economică.

Există valori extrem de ridicate ale venitului pentru tratamentul Cys la 'Kodiak' sau la 'Hybrirock', și există valori extrem de scăzute, negative pentru tratamentul cu Tria la 'Factor' și la 'Hybrirock'.

Analiza economică a variantelor experimentale arată, așadar, o legătură specifică datorată interdependenței dintre factorii analizați (substanța bioactivă, hibrid respectiv an de cultură).

5. Concluzii și recomandări

5.1. Concluzii generale

Se poate observa că tratamentul semințelor și aplicarea foliară a substanțelor bioactive folosite în aceste experiențe pot oferi protecție plantelor împotriva proceselor de stres abiotic, dar modul de administrare al tratamentului, stadiul la care se aplică acestea (la sămânță sau foliar, pe vegetație), precum și tipul și gradul de stres abiotic pot influența în mare măsură efectul indus de substanțele utilizate în tratamente.

Este necesară aplicarea mai multor metode de monitorizare a procesului de germinare și mai detaliate, precum și efectuarea de teste suplimentare care să se concentreze pe viabilitatea semințelor. Aceste teste pot oferi o imagine mai cuprinzătoare a efectelor tratamentelor asupra germinării semințelor și dezvoltării plantulelor.

Este recomandată extinderea gamei de investigații și determinări biochimice și fiziologice și cu diverși (ca tip și intensitate) alți factori de stres (salinitate, secetă etc.) care imită într-un mod mai eficient condițiile ambientale cu care se pot întâlni plantele, pentru a determina factorii de stres pentru care substanțele de tratament pot oferi o protecție eficientă.

Este necesară, de asemenea, efectuarea mai multor cercetări cu un design experimental care să cuprindă și metode matematico-statistice mai complexe, care să permită confirmarea, cu o mai mare precizie a diferențelor între efectele tratamentelor, totodată minimalizând interferența influenței climatice și a soiului/hibridului utilizat în interpretarea rezultatelor.

Este necesar, totodată, să extindem experimentele realizate la scară mică și să efectuăm experimente la scară mai mare, astfel încât să putem trage concluzii fundamentate și recomandări cu privire la aplicabilitatea și rentabilitatea în activitatea de producție vegetală.

5.2. Recomandări

1. Pentru îmbunătățirea vitezei, uniformității și sincronizării germinației, recomandăm tratamentul semințelor cu AsA (10 mM), Tria (1 μ M) și Cys (10 mM) pentru hibridul 'Factor'. În cazul hibridului 'Hibrirock', tratamentele cu Tria, apoi cu AsA și Cys s-au dovedit eficiente în această ordine descrescătoare.

2. Pentru a măsura efectele pozitive ale tratamentului semințelor asupra vigurozității lor, este recomandat să se efectueze testul de îmbătrânire accelerată, Cold testul și testele de creștere a plantulelor.

3. Efectele negative ale temperaturii scăzute pot fi reduse prin tratamente cu Cys și AsA (10 mM), respectiv Tria (1 μ M) în cazul hibridului 'Factor', în timp ce în

cazul hibridului 'Hybrirock', tratamentele cu Cys, Tria și AsA s-au dovedit eficiente în această ordine descrescătoare.

4. În experimentele de câmp, pe lângă tratamentul semințelor se poate recomanda și tratamentul în vegetație. Ordinea de eficacitate a tratamentelor pentru 'Factor' este Cys, AsA și Tria, în timp ce pentru 'Hybrirock', ordinea este AsA, Cys și Tria, iar la hibrizii 'Kodiak' și 'Triangle', efectul tratamentelor AsA și Cys este asemănător, urmat de Tria. Pentru stimularea parametrilor biometrici (în toamnă și primăvară) ai rădăcinilor, recomandăm tratamentul cu Tria (10 ppm), iar pentru o durată mai îndelungată și pentru mai mulți parametri, eficacitatea tratamentelor cu AsA și Cys este mai pronunțată.

5. Când evaluăm efectele tratamentelor realizate în condiții de câmp, trebuie să luăm în considerare impactul condițiilor meteorologice și al soiului/hibridului.

6. Aplicarea tratamentelor pe semințe și/sau foliar pe tinerele plantule poate fi considerată o metodă rentabilă, cu consum redus de inputuri, ecologică și durabilă, care poate fi implementată cu ușurință în tehnologia de cultivare la scară largă.

6. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei

1. Rezultatele experimentelor de laborator și, în special, cele din câmp referitoare la utilizarea substanțelor bioactive sunt deosebit de importante în ceea ce privește fezabilitatea practică.

2. Până în prezent, s-au efectuat puține studii la nivel mondial referitoare la aplicabilitatea triacontanolului și a cisteinei în cultivarea plantelor.

3. Astfel de tratamente și tratamente similare cu substanțe bioactive, aplicate pe semințe sau în timpul perioadei vegetative, ar putea fi luate în considerare la crearea de noi hibridi ca metodă de creștere a capacității de toleranță la stres a plantelor.

4. Această linie de îmbunătățire a tehnologiei de cultivare reprezintă o perspectivă promițătoare cu aplicabilitate în activitatea de producție din cadrul fermelor din România și nu numai.

REFERINȚE SELECTATE

1. ABOUTALEBIAN, M. A. și NAZARI, S., 2017, Seedling emergence and activity of some antioxidant enzymes of canola (*Brassica napus*) can be increased by seed priming. *The Journal of Agricultural Science* 155(10): 1541–1552. <https://doi.org/10.1017/S0021859617000661>
2. AFZAL, I., BASRA, S., FAROOQ, M. și NAWAZ, A., 2006, Alleviation of Salinity Stress in Spring Wheat by Hormonal Priming with ABA, Salicylic Acid and Ascorbic Acid. *International Journal of Agriculture and Biology* 8530: 8–1.

3. AHMADI, K. S. A., A. E., J. D., S.A, S. și S. J., 2016, Effect Of Drought Stress And Foliar Application Of Growth Regulators On Photosynthetic Pigments And Seed Yield Of Rapeseed (Brassica Napus L. Cv. Hyola 401). 18(3): 196–217.
4. AL-MUDARIS, M. A., 1998, Notes on Various Parameters Recording the Speed of Seed Germination. *Der Tropenlandwirt - Journal of Agriculture in the Tropics and Subtropics* 99(2): 147–154.
5. ASHRAF, M. și FOOLAD, M. R., 2007, Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59(2): 206–216. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.12.006>
6. AYMEN, E. M., 2018, Seed Priming with Plant Growth Regulators to Improve Crop Abiotic Stress Tolerance. Pp. 95–106. In: RAKSHIT, A. & SINGH, H.B. (eds): *Advances in Seed Priming*. Springer, Singapore.
7. BASKIN, C. C., 1970, Relation of certain physiological properties of peanut (*Arachis hypogaea* L.) seed to field performance and storability
8. BHANDARI, S., BHANDARI, A. și SHRESTHA, J., 2021, Effect of different doses of triacontanol on growth and yield of kohlrabi (*Brassica oleracea* L. var. gongyloides). *Heliyon* 7. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08242>
9. BOSE, B., KUMAR, M., SINGHAL, R. K. și MONDAL, S., 2018, Impact of Seed Priming on the Modulation of Physico-chemical and Molecular Processes During Germination, Growth, and Development of Crops. Pp. 23–40. In: RAKSHIT, A. & SINGH, H.B. (eds): *Advances in Seed Priming*. Springer, Singapore.
10. CHANDRA, S. și ROYCHOUDHURY, A., 2020, Penconazole, Paclobutrazol, and Triacontanol in Overcoming Environmental Stress in Plants. Pp. 510–534. *Protective Chemical Agents in the Amelioration of Plant Abiotic Stress*. John Wiley & Sons, Ltd.
11. DOGRU, A. și ÇAKIRLAR, H., 2020, Effects of leaf age on chlorophyll fluorescence and antioxidant enzymes activity in winter rapeseed leaves under cold acclimation conditions. *Brazilian Journal of Botany* 43. <https://doi.org/10.1007/s40415-020-00577-9>
12. DRAGANIC, I. și LEKIĆ, S., 2012, Seed priming with antioxidants improves sunflower seed germination and seedling growth under unfavorable germination conditions. *Turk J Agric For. Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 36: 421–428. <https://doi.org/10.3906/tar-1110-16>
13. FODORPATAKI LÁSZLÓ, MOLNÁR KATALIN, SEBASTIAN PLUGARU, și TOMPA BERNÁT, 2019, Priming with vitamin U enhances cold tolerance of lettuce (*Lactuca sativa*). *Notulae Botanicae* 47(3): 592–598.
14. FRIEDT, W., TU, J. și FU, T., 2018, Academic and Economic Importance of Brassica napus Rapeseed. Pp. 1–20
15. GARCÍA-VALENZUELA, X., GARCÍA-MOYA, E., RASCÓN-CRUZ, Q., HERRERA-ESTRELLA, L. și AGUADO-SANTACRUZ, G. A., 2005, Chlorophyll accumulation is enhanced by osmotic stress in graminaceous chlorophyll cells. *Journal of Plant Physiology* 162(6): 650–661. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.09.015>
16. GENISEL, M., ERDAL, S. și KIZILKAYA, M., 2015, The mitigating effect of cysteine on growth inhibition in salt-stressed barley seeds is related to its own reducing capacity rather than its effects on antioxidant system. *Plant Growth Regulation* 75(1): 187–197. <https://doi.org/10.1007/s10725-014-9943-7>

17. JISHA, K. C., VIJAYAKUMARI, K. și PUTHUR, J. T., 2013, Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. *Acta Physiologiae Plantarum* 35(5): 1381–1396. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1186-5>
18. LUO, T., SHENG, Z., ZHANG, C., LI, Q., LIU, X., QU, Z. și XU, Z., 2022, Seed Characteristics Affect Low-Temperature Stress Tolerance Performance of Rapeseed (*Brassica napus* L.) during Seed Germination and Seedling Emergence Stages. *Agronomy* 12(8): 1969. <https://doi.org/10.3390/agronomy12081969>
19. MAJIDI, M. M., RASHIDI, F. și SHARAFI, Y., 2015, Physiological traits related to drought tolerance in Brassica. *International Journal of Plant Production* 9(4): 541–559. <https://doi.org/10.22069/ijpp.2015.2462>
20. MITTLER, R., 2006, Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science* 11(1): 15–19. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2005.11.002>
21. NASIBI, F., KALANTARI, K., ZANGANEH, R., MOHAMMADI-NEJAD, G. și OLOUMI, H., 2016, Seed priming with cysteine modulates the growth and metabolic activity of wheat plants under salinity and osmotic stresses at early stages of growth: *Indian Journal of Plant Physiology* 21. <https://doi.org/10.1007/s40502-016-0233-4>
22. NAYYAR, H., 2003, Accumulation of osmolytes and osmotic adjustment in water-stressed wheat (*Triticum aestivum*) and maize (*Zea mays*) as affected by calcium and its antagonists. *Environmental and Experimental Botany* 50(3): 253–264. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(03\)00038-8](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(03)00038-8)
23. ORTIZ_ESPIN, A., SÁNCHEZ-GUERRERO, A., SEVILLA, F. & JIMÉNEZ, A., 2017, The Role of Ascorbate in Plant Growth and Development
24. PERVEEN, S., SHAHBAZ, M. și ASHRAF, M., 2012, Is pre-sowing seed treatment with triacontanol effective in improving some physiological and biochemical attributes of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt stress? *Journal of Applied Botany and Food Quality* 85.
25. RAZA, M. A. S., SHAHID, A. M., SALEEM, M. F., KHAN, I. H., AHMAD, S., ALI, M. și IQBAL, R., 2017, Effects and management strategies to mitigate drought stress in oilseed rape (*Brassica napus* L.): a review. *Zemdirbyste-Agriculture* 104(1): 85–94. <https://doi.org/10.13080/z-a.2017.104.012>
26. SUZUKI, N., RIVERO, R. M., SHULAEV, V., BLUMWALD, E. și MITTLER, R., 2014, Abiotic and biotic stress combinations. *New Phytologist* 203(1): 32–43. <https://doi.org/10.1111/nph.12797>
27. WAQAS, M., KORRES, N. E., KHAN, M. D., NIZAMI, A.-S., DEEBA, F., ALI, I. și HUSSAIN, H., 2019, Advances in the Concept and Methods of Seed Priming. Pp. 11–41. In: HASANUZZAMAN, M. & FOTOPOULOS, V. (eds): *Priming and Pretreatment of Seeds and Seedlings: Implication in Plant Stress Tolerance and Enhancing Productivity in Crop Plants*. Springer, Singapore.
28. ZHU, Z. H., SAMI, A., XU, Q. Q., WU, L. L., ZHENG, W. Y., CHEN, Z. P., JIN, X. Z., ZHANG, H., LI, Y., YU, Y. și ZHOU, K. J., 2021, Effects of seed priming treatments on the germination and development of two rapeseed (*Brassica napus* L.) varieties under the co-influence of low temperature and drought. *PLOS ONE* 16(9): e0257236. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0257236>
29. ZULFIQAR, F., 2021, Effect of seed priming on horticultural crops. *Scientia Horticulturae* 286: 110197. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110197>
30. ***FAOSTAT. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>, 07.01.2023