

Descriere:

Prezenta invenție se referă la genetică, în special la mutagenza experimentală, și poate fi utilizată în agricultură pentru protecția plantelor agricole de efectul mutagen al pesticidelor.

Este cunoscută metoda de reducere a efectului mutagen prin utilizarea sucului din fructele cătinei albe (*Hippophae rhamnoides*) în tratarea mediului nutritiv pe care se cultivă musculița de oțet *Drosophila melanogaster* și evaluarea gradului de proliferare a ei [1].

Dezavantajul acestei metode constă în aceea că gradul de proliferare nu întotdeauna reflectă direct efectul antimutagen al sucului utilizat.

Se mai cunoaște și metoda de reducere a efectului mutagen al pesticidelor la utilizarea extractului din fructele de Bârcoace (*Cotoneaster melanocarpus*), care constă în tratarea boabelor de grâu cu acest extract și studierea ulterioară a nivelului de mutații cromozomiale în celulele meristemice din vârful rădăcinilor [2].

Dezavantajul acestei metode constă în primul rând în aceea că efectul antimutagen al extractului menționat nu este suficient de pronunțat, iar în al doilea rând obținerea preparatelor cu efect antimutagen din fructele de Bârcoace nu e atât de rațională din punct de vedere economic.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unei metode mai eficiente și mai economice de reducere a efectului mutagen al pesticidelor.

Problema dată poate fi rezolvată prin utilizarea în calitate de agent antimutagen a suspensiei celulelor algei *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl CALU-835, care conține un complex de substanțe biologice active (fitohormoni, vitamine, proteine, prostoglandine etc.), ce activează procesele fiziologice și biochimice în celule, stimulează diviziunea lor și respectiv procesul de germinare a semințelor.

Esența invenției constă în faptul că metoda propusă de reducere a efectului mutagen al pesticidelor include tratarea semințelor înainte de semănat cu suspensia de celule ale algei *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl CALU-835 cu concentrația de 1,25-5,0 mg/ml, timp de 4-12 ore.

Rezultatul tehnic, care poate fi obținut prin realizarea invenției, constă în sporirea activității mitotice a celulelor și stimularea mecanismelor moleculare de reparație a mutațiilor induse de pesticide.

Exemplu de realizare a invenției

Semințele de bob (*Vicia faba* L., var. minor) în număr de 25-30 se scufundă într-un pahar chimic de 150 ml, în care se toarnă 50 ml suspensie de celule de *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl CALU-835 (notat în continuare prin Sp. *platensis*) cu concentrația de 2,5 mg/ml și se lasă timp de 4 ore în condiții de laborator. Paralel, se efectuează și varianta cu agent mutagen, utilizând în acest scop erbicidul Lasso în concentrație de 2,5 mg/ml. În varianta combinată Lasso-Sp. *platensis*, semințele după tratarea cu Lasso (4 ore) se usucă pe hârtie de filtru timp de 8 ore la aer, apoi se tratează cu Sp. *platensis* (4 ore). În toate variantele, după tratare, semințele se spală timp de 5 min cu apă distilată și se plasează uniform în vase Petri pe hârtie de filtru umedă, iar după aceea se pun în termostat pentru germinare la temperatura de 25°C. Când rădăcinile lor ating lungimea de 15-17 mm, ele se fixează cu soluția Carnou timp de 24 ore, apoi se transferă în sticlute cu alcool etilic de 70% și se păstrează la frigider timp nelimitat. În continuare rădăcinile se colorează cu soluție de acetocarmină, se macerează și din conul meristematic al lor se fac preparate de tip squash pentru examinarea lor la microscop.

Analogic exemplului descris au fost cercetate și alte probe de *Spirulina platensis* pentru a stabili concentrațiile și expozițiile-limită.

Datele obținute sunt prezentate în tabel.

Variante de tratare	Concentrația	Nr. de celule studiate	Activitate mitotică, %	Nr. de ana-faze-telofaze studiate	Nivelul mutațiilor lor, %
Bârcoace (extract)	10 ⁻² μg/ml	-	-	1987	2,9±0,4
Granozan	2 kg/t sem.	-	-	1711	5,7±0,6
Granozan + extract de bârcoace	_____	-	-	1685	3,9±0,5
<i>Spirulina platensis</i> , suspensie	2,5 mg/ml	14102	18,4±0,3	1308	11,4±1,4
Lasso	2,5 mg/ml	13229	11,9±0,2	1642	31,1±2,4
Lasso + suspensie de <i>Spirulina platensis</i>	_____	12988	17,6±0,3	2636	13,4±1,1

Datele din tabel demonstrează că erbicidul Lasso în concentrația dată induce un nivel de mutații cromozomiale (NM, %) care depășește de 2,8 ori nivelul de mutație (NM) observat în varianta cu Sp. *platensis* (31,1% și 11,4% respectiv). Totodată, în varianta când suspensia de Sp. *platensis* a fost utilizată peste 4 ore după tratarea semințelor de bob cu soluția de Lasso, NM în celulele meristemice s-a micșorat de 2,3 ori față de varianta, în care Lasso a fost utilizat de sine stătător. Deci, substanțele biologice active (SBA) din suspensia de celule de *Spirulina platensis* reduc semnificativ nivelul mutațiilor produse de erbicidul Lasso. Făcând comparație cu analogul cel mai apropiat, la acest indice observăm că extractul de bârcoace în concentrația indicată ca fiind optimă reduce efectul pesticidului Granozan numai de 1,5 ori (5,7% și 3,9% respectiv).

Totodată, ținem să menționăm că doza de Granozan din analogul cel mai apropiat e dată în kg/t, deoarece conform tehnologiei cunoscute semințele de grâu se tratează cu preparatul de Granozan în formă de praf.

Spre deosebire de analogul cel mai apropiat noi am studiat paralel și activitatea mitotică (AM) a celulelor meristemice, indice care ne prezintă informație adăugătoare în ceea ce privește influența SBA asupra efectului genotoxic al pesticidelor. După cum se vede din tabel, AM în varianta cu Sp. *platensis* constituie 18,4%, în varianta cu Lasso ea s-a redus de 1,5 ori (18,4% și 11,9% respectiv), iar în varianta Lasso-Sp. *platensis* AM din nou a revenit aproape la nivelul inițial (17,6% și 18,4%). Deci SBA din suspensia de celule de *Spirulina platensis* nu numai inițiază și activează procesele de reparație a mutațiilor cromozomiale induse de erbicidul Lasso, ci și stimulează potențialul mitotic al celulelor meristemice inhibitate de către acest preparat. Datorită faptului că

acești indici sunt strâns legați între ei din punct de vedere al mecanismelor molecular-genetice ce îi condiționează, putem face concluzia că suspensia de celule de *Spirulina platensis* poate servi în calitate de agent antimutagen.

Așadar, metoda propusă în comparație cu cea analoagă asigură o reducere semnificativă a efectului mutagen, stimulând în același timp activitatea mitotică a celulelor și, respectiv, procesul de germinare a semințelor. Totodată, suspensia de celule de *Spirulina platensis* este ecologic pură și mai puțin costisitoare.