The effect of using DDGS as an ingredient in the production of low-cost feed for common carp (Cyprinus carpio Linneus)

Cristian-Alin Barbacariu [1], Cristina Mihaela Rimbu [2], Lenuta Dirvariu [1], Marian Burducea [1,*], Eugen Oprea [1], Razvan Stefan Boiangiu, Elena Todirascu-Ciornea [3], Gabriela Dumitru [3]

1 Research and Development Station for Aquaculture and Aquatic Ecology, "Alexandru Ioan Cuza" University, Carol I, 20A, 700505 Iasi, Romania
2 Department of Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences ''Ion Ionescu de la Brad'' Iaşi, Mihail Sadoveanu Alley 6-8, 700490 Iasi, Romania
3 Faculty of Biology, "Alexandru Ioan Cuza" University, Carol I, 20A, 700505 Iasi, Romania

Introduction: Distillers dried grains with solubles (DDGS), a coproduct from the ethanol production industry, is successfully used as an ingredient in feeding cattle and pigs due to its relatively high protein and nutrient content and low price compared to cereals. The aim of this study was to establish the optimal DDGS concentration that can be included in the diet of common carp.

Materials and methods: A seven-week experiment was performed on common carp with initial weight of 86 g feed with three experimental diets D0 (DDGS 0%), D1 (DDGS 25%) and D2 (DDGS 35%) (Table 1).

Diets and flesh composition were analyzed by NIR DA7250 Perten (Table 2 and Table 3).

SOD, CAT, GPX, GSH, MDA) and carbonylated proteins, were determined according to the methods described in Capatina et al. (2020).

The total number of aerobic microorganisms, total number of anaerobic microorganisms, the total number of sulphite-reducing Clostridia, and the total number of Enterobacte-riaceae were determined according to the methods described in Rimbu et al. (2019).

Table 1. Ingredients used in the diets

	D0	D1	D2
Sunflower meal	35%	20%	5%
Corn	25%	20%	20%
Wheat	20%	15%	20%
Fish meal	20%	20%	20%
DDGS	0%	25%	35%

Results: Diets with DDGS did not produce significant changes in growth parameters (Table 4) and flesh quality. Regarding the oxidative status in the muscle tissue, D1 and D2 significantly reduced, in a dose-dependent manner, the specific activity of SOD and GSH, while CAT, and GPX were left unaffected. In the liver tissue CAT, GSH, MDA and carbonylated proteins were reduced in the DDGS diets (Fig 1). The microbiological analysis of the intestinal contents revealed a variation of the microbial density depending on the diet used. The total number of aerobic germs was between 224.2 x 104 and 69.84 x 106 (D2 >D1>D0) and the total number of anaerobic germs was between 15.2 x 102 and 28.2 x 102 (D2>D0>D1) (Fig 2).

Table 2. Proximate composition of diets

	D0	D1	D2
Moisture %	9.12±0.14b	9.14±0.1b	10.51±0.12a
Protein %	26.53±0.31a	26.45±0.3a	24.97±0.12b
Fat %	3±0.13c	4.51±0.09b	4.78±0.1a
Fiber %	6.39±0.17a	6.29±0.11a	5.5±0.07b
Amidon %	44.02±0.46a	41.03±0.12b	40.88±0.25b
Ash %	7.6±0.17b	7.85±0.15a	7.57±0.12b
Sugar %	1.27±0.21c	2.34±0.12b	3.37±0.15a
Calcium %	1.78±0.18a	1.61±0.08ab	1.58±0.07b
Phosphorus %	0.2±0.06c	0.41±0.03b	0.6±0.04a

Table 3. Proximate composition of flesh

	D0	**D1**	**D2**
Fat As is %	4.43±0.35ab	5.06±0.34a	3.38±0.38b
Moisture %	73.40±0.26	72.51±0.37	73.36±0.39
Protein As is %	17.00±0.13	16.18±0.24	16.87±0.30
Collagen As is %	0.68±0.12	1.02±0.15	0.89±0.10
Salt As is %	1.12±0.17a	0.52±0.15b	0.68±0.12ab
Ash As is %	1.60±0.13b	1.92±0.1ab	2.12±0.12a

Table 4. Growth parameters of common carp

	D0	D1	D2
FCR	3.98±1.71	2.39±0.91	2.90±1.53
WG	1381.00±296	1376.72±359.24	1367.22±330.81
SGR	0.85±0.05	0.83±0.05	0.83±0.09
RGR	23.84±5.12	24.72±6.45	24.47±5.92
PER	1.80±0.51	0.79±0.15	0.82±0.23
CF	1.78±0.07	1.75±0.09	1.81±0.10
VSI	10.55±0.40	8.97±0.42	10.06±0.62
HSI	1.12±0.08	0.83±0.11	0.95±0.09
S (%)	100.00	100.00	100.00

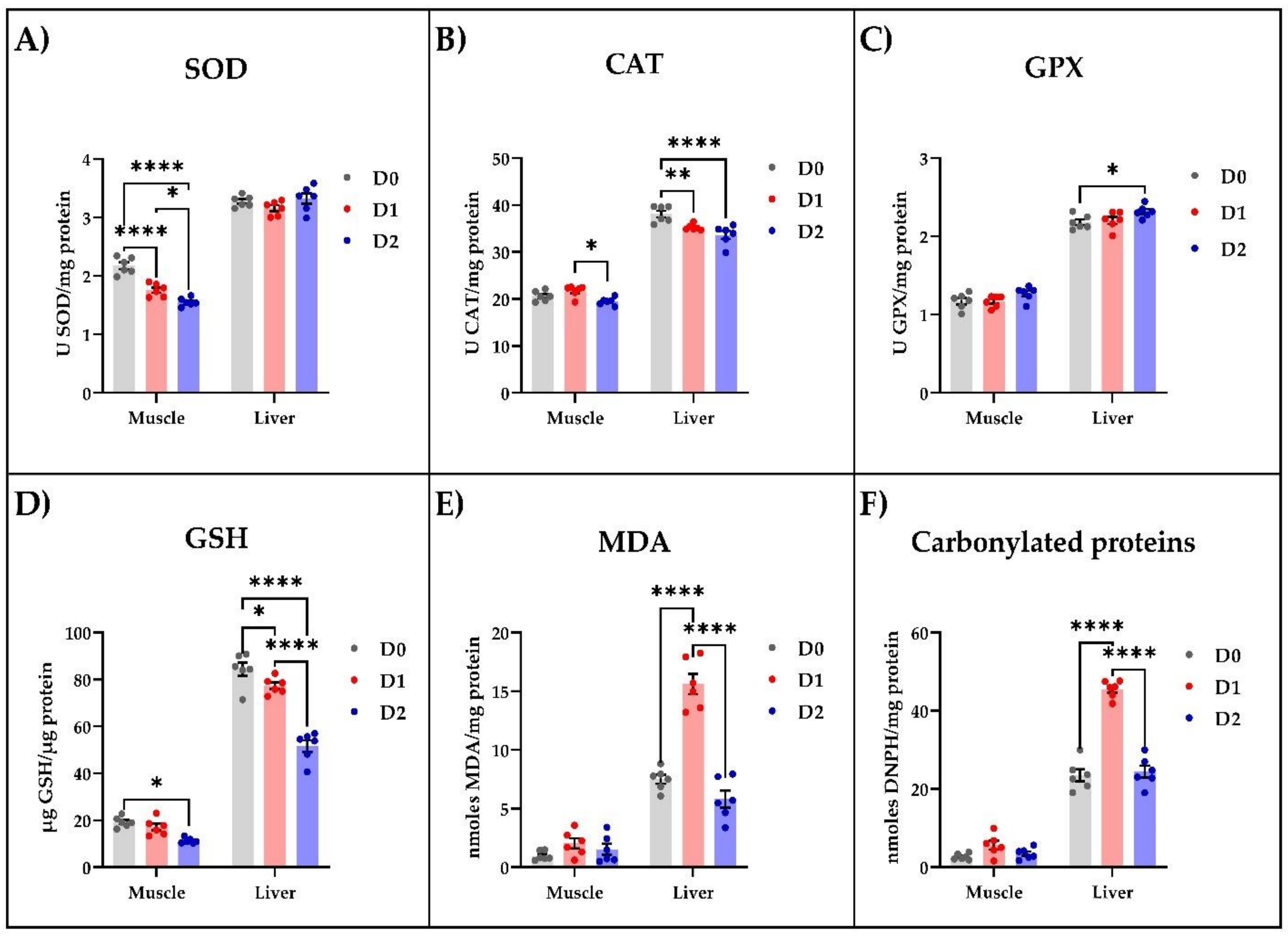


Figure 1. (A) SOD, (B) CAT and (C) GPX specific activities while the non-enzymatic parameters consisted of estimating the levels of (D) GSH, (E) MDA and (F) carbonylated proteins. The values are expressed as means ± S.E.M. (n=6).

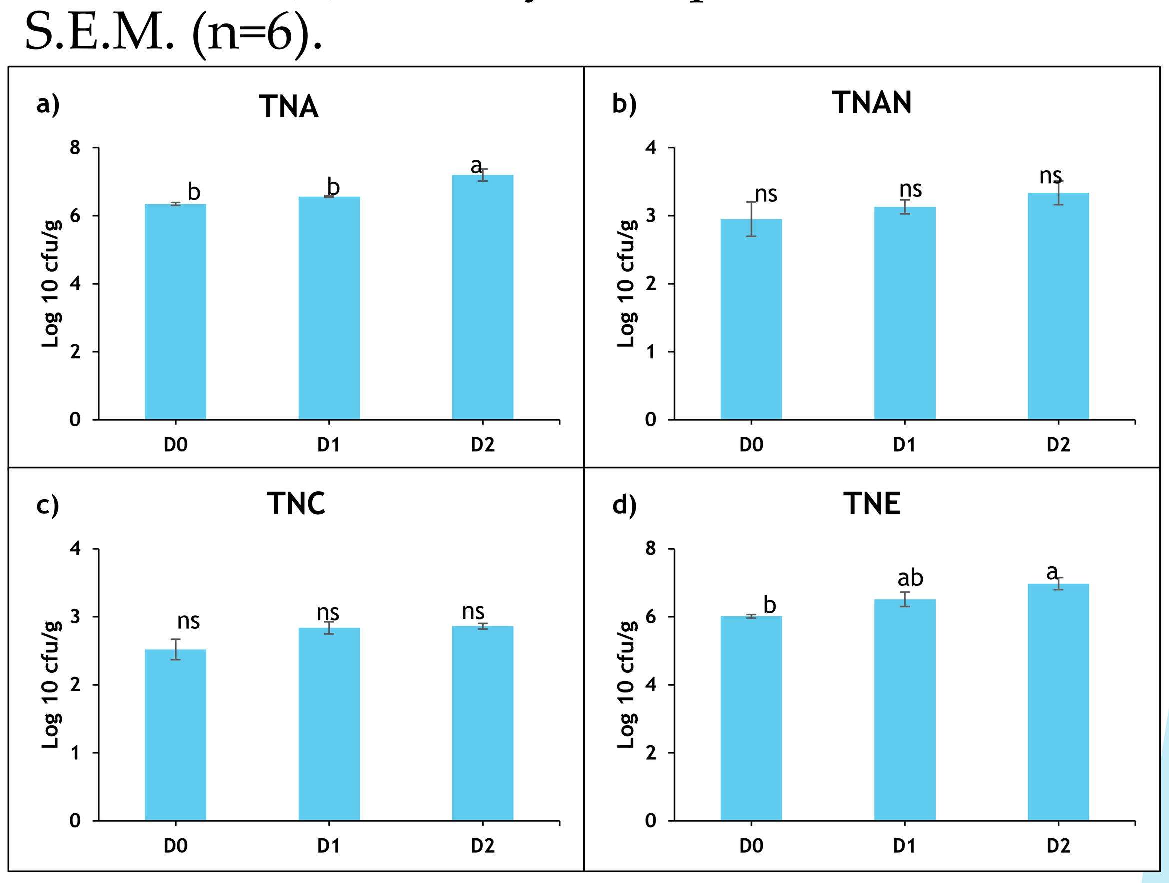


Figure 2. Representation of logarithmic means of: TNA-total number of aerobic bacteria, TNAN-total number of anaerobic bacteria, TNC-total number of sulfite-reducing clostridia, TNE-total number of Enterobacteriaceae in the intestine of common carp fed with experimental diets with DDGS.

Conclusions

The results of this study showed that at a concentration of 35% DDGS (D2) in the diet, growth parameters and flesh quality were not affected. From a physiological point of view, the blood biochemical profile was not affected, while the oxidative status improved and the intestinal microbiota was positively affected. This study demonstrates that adding 35% DDGS and reducing sunflower meal from 35% to 5% in the diet does not affect carp growth and development. These results can be used to formulate practical feed diets with DDGS for common carp.

References

Capatina, L.; Todirascu-Ciornea, E.; Napoli, E.M.; Ruberto, G.; Hritcu, L.; Dumitru, G. Thymus vulgaris Essential Oil Protects Zebrafish against Cognitive Dysfunction by Regulating Cholinergic and Antioxidants Systems. Antioxidants 2020, 9, 1083. https://doi.org/10.3390/antiox9111083

Rîmbu, C.; Horhogea, C.; Cozma, A.; Cretu, C.; Grecu, M.; Rusu, R.; Guguianu, E. Analysis of Bacteriological Infected Dog and Cat Bite Wounds in Veterinary Medical Staff. Bulletin Uasvm Veterinary Medicine 2020, 77(1). Doi:10.15835/Buasvmcn-Vm: 2019.0038

Centrul de Genetică Funcțională, Universitatea de Stat din Moldova

Republica Moldova, MD-2028, Chisinau, str. Academiei, 3/2, *e-mail: burcowski@gmail.com

EFECTUL INFECȚIEI CU LUPOAIE (*OROBANCHE CUMANA* Wallr.) ASUPRA RECOLTEI DE FLOAREA-SOARELUI

Burcovschi Ion*, Duca Maria, Clapco Steliana

INTRODUCERE

Floarea-soarelui, care este una dintre principalele culturi oleaginoase din Republica Moldova, poate fi afectată de mai mult de 40 specii de agenți patogeni. Aproximativ 12 dintre aceștia provoacă în mod regulat pierderi economice grave. Astăzi, cel mai răspândit fitoparazit al florii-soarelui este lupoaia (*Orobanche cumana* Wallr.), incidența căruia variază anual în funcție de condițiile de mediu.

Conform cercetărilor noastre anterioare, lupoaia este detectată în mod constant în partea centrală și de sud a țării, unde afectează aproximativ 47% și respectiv - 60% din suprafețele însămânțate cu floarea-soarelui. Gravitatea impactului determinat de infecția cu lupoaie depinde de intensitatea atacului și reacția de răspuns a plantei la infecție și variază de la descreșteri nesemnificative până la pierderi de circa 90% din recolta scontată. Se menționează o scădere a recoltei cu până la 20% chiar și în cazul unei intensități slabe a atacului.

MATERIAL ȘI METODE

Datele au fost colectate, în perioada anilor 2015-2020, de pe terenurile stațiilor de testare ale Comisiei de Stat pentru Testarea Soiurilor de Plante (CSTSP), situate în diferite zone pedoclimatice ale Republicii Moldova: Nord - Visoca, Pelinia; Centru –Băcioi; Sud - Grigorievca, Svetlîi.

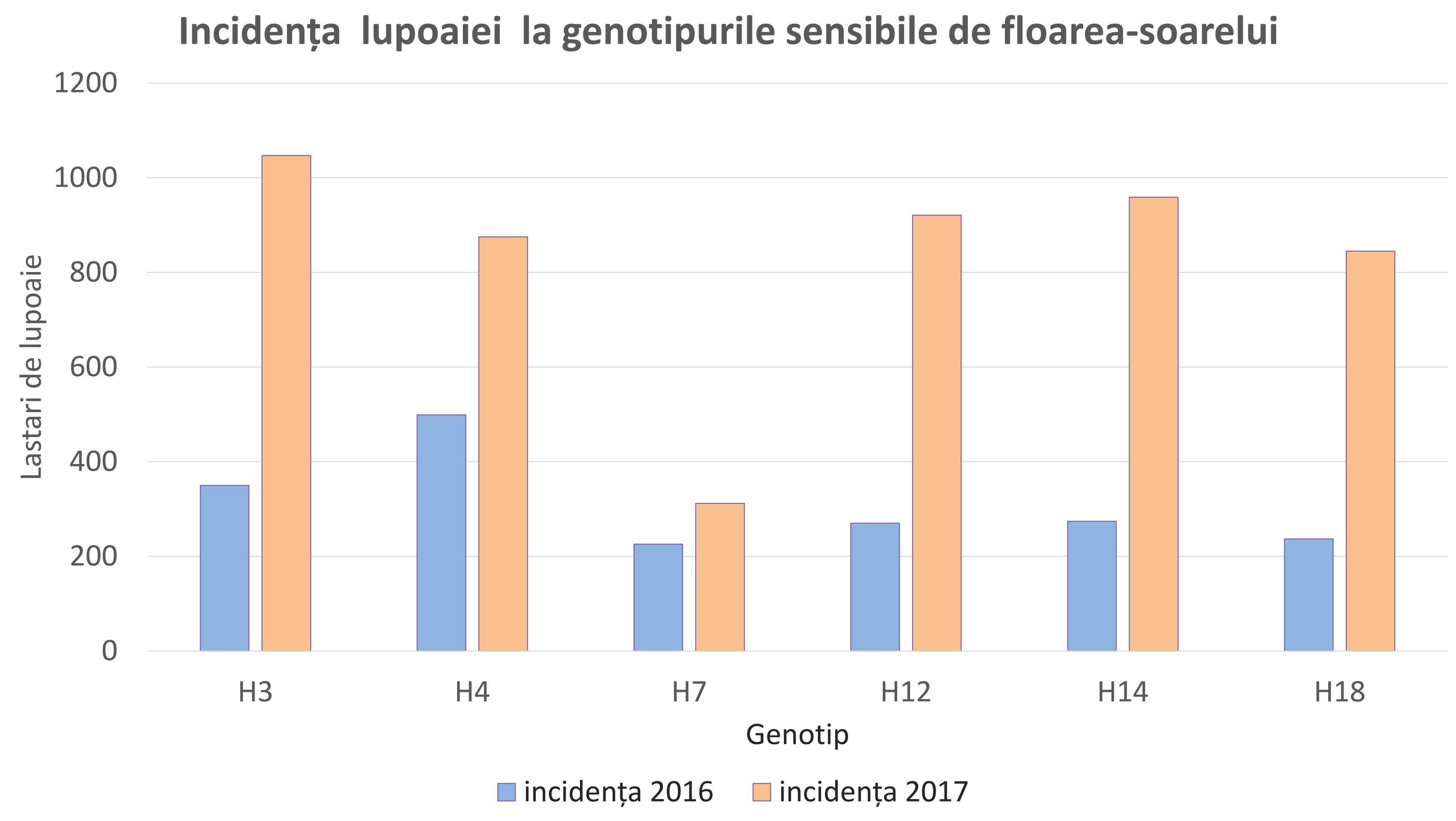
În diferiți ani, au fost evaluați de la 6 până la 15 hibrizi de floarea-soarelui (notați convențional de la H1 la H21), care aparțin la diferite grupe de maturitate și care au servit ca grup de control în experiențele de testare a hibrizilor în cadrul CSTSP.

Genotipurile incluse în studiu reprezintă hibrizi de origine străină (Limagrain, Syngenta, Maisadour, Euralis) și autohtonă (AMG-Agroselect și ICCC „Selecția”), caracterizați prin productivitate înaltă, rezistență la secetă și cu grad diferit de rezistență la agenți patogeni.

Datele meteorologice au fost colectate din bazele de date ale Serviciului Hidrometeorologic de Stat din Republica Moldova și completate cu datele meteorologice înregistrate nemijlocit la sectoarele de testare ale CSTSP.

REZULTATE

Evidența gradului de infestare a 21 hibrizi de floarea-soarelui pe parcursul celor 6 ani de studiu în cinci sectoare ale CSTSP a permis să constatăm că în funcție de condițiile de mediu au fost stabilite de la 37 la 1047 lăstari ale fitoparazitului per 100 de plante gazdă. Cea mai mare incidență a *O. cumana* s-a constatat în localitățile din sudul Republicii, Grigorievca și Svetlîi, cu valori maxime în 2016 și 2017, ani caracterizați printr-o cantitate sporită de precipitații (în special în lunile mai – iunie).



Pentru a estima efectul lupoaiei asupra recoltei la floarea-soarelui, am comparat acest indicator la șase hibrizi sensibili la lupoaie, care au fost cultivați în condiții climatice similare, dar în localități cu incidența infecției diferită.

Astfel majoritatea hibrizilor sensibili atestă o scădere a recoltei care variază de la 3% la 40% în cazul unui grad mediu de atac (incidența 250-500) și de la 26% la 52% în cazul unui grad avansat de atac (incidența 500 - 1000).

Cercetările realizate au demonstrat că pentru condițiile Republicii Moldova infecția cu lupoaie contribuie la reducerea recoltei de la 3 % până la 52 % în funcție de genotip. În mediu, în cadrul hibrizilor incluși în studiu pe perioada analizată, s-a stabilit o diminuare a recoltei de semințe de 32% .

Analiza comparativă a indicilor de recoltă și incidenței lupoaiei

Genotip	INCIDENȚA LUPOAIEI 250-500 lăstari/plantă gazdă			Incidența Lupoiei 500-1000 lăstari/plantă gazdă		
	SY	AY	DR	SY	AY	DR
H3	2,22	3,39	34,5	1,62	3,39	52,2
H4	2,10	3,53	40,5	1,84	3,53	47,9
H7	2,80	3,50	20,0	2,04	3,50	41,7
H12	2,46	3,44	28,5	2,31	3,44	32,8
H14	3,17	3,27	3,10	2,42	3,27	26,0
H18	3,09	3,54	12,7	1,78	3,54	49,7
media	2.64	3.44	23.2	2.00	3.44	41,7

Incidența este exprimată în număr de lăstari de O. cumana per 100 plante gazdă.

SY- recolta (t/ha) ; AY – recolta medie a genotipului în lipsa infecției(t/ha) ; DR – rata de descreștere a recoltei (%)

CONCLUZII

Atât incidența infecției cu lupoaie, cât și efectul acestei infecții asupra recoltei depinde de condițiile de mediu și de caracteristicile genetice ale hibridului. Astfel același genotip în condiții de mediu diferite manifestă grad diferit de infecție.

Efectul infecției cu lupoaie asupra recoltei de floarea-soarelui s-a manifestat prin scăderea recoltei de la 3% până la 52%, față de recolta medie a aceluiași genotip ne afectat de lupoaie, media fiind de 32%.

Curent status of the OpenFlexure@BioIASI project

Colpoș Andreea Monica[1], Ciurlic Maria Paula[1], Ștefan Marius[1], Mihășan Marius[1]

Bioactive research group, Faculty of Biology, Alexandru Ioan Cuza University, Iaşi, Romania

1. The OpenFlexure project https://openflexure.org/

- an open-source project;
- aims to make high precision mechanical positioning available to anyone with a 3D printer;
- the positioning system can be used in microscopes, micromanipulators, and more;
- developing team based at the University of Bath and the University of Cambridge.

2. OpenFlexure@BioIASI project

- student-based project;
- kicked off in 2021;
- **Goals**:
  1. **building a 3D printed OpenFlexure microscope**
  2. **evaluating the real costs and its applications**

3. Building the microscope

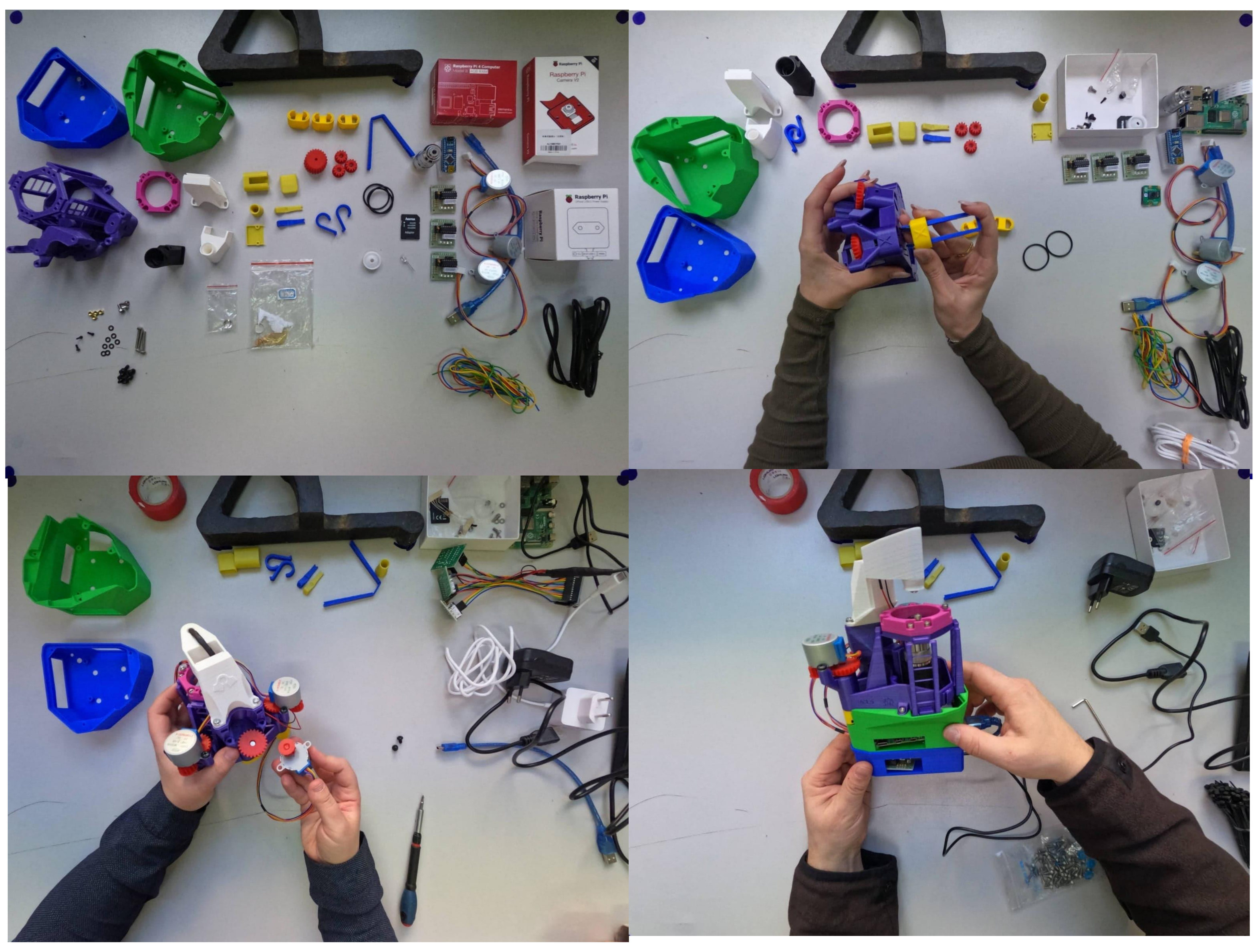


Figure 1. Selection of steps involved in building the microscope

Components	Costs (euros)
Electronics (Pi board, camera motors, controllers)	200
Objectives - sourced from old microscopes	0
3D printed components 229,3223 g of PLA 30,3 hours printing time	5 (only PLA cost considered)

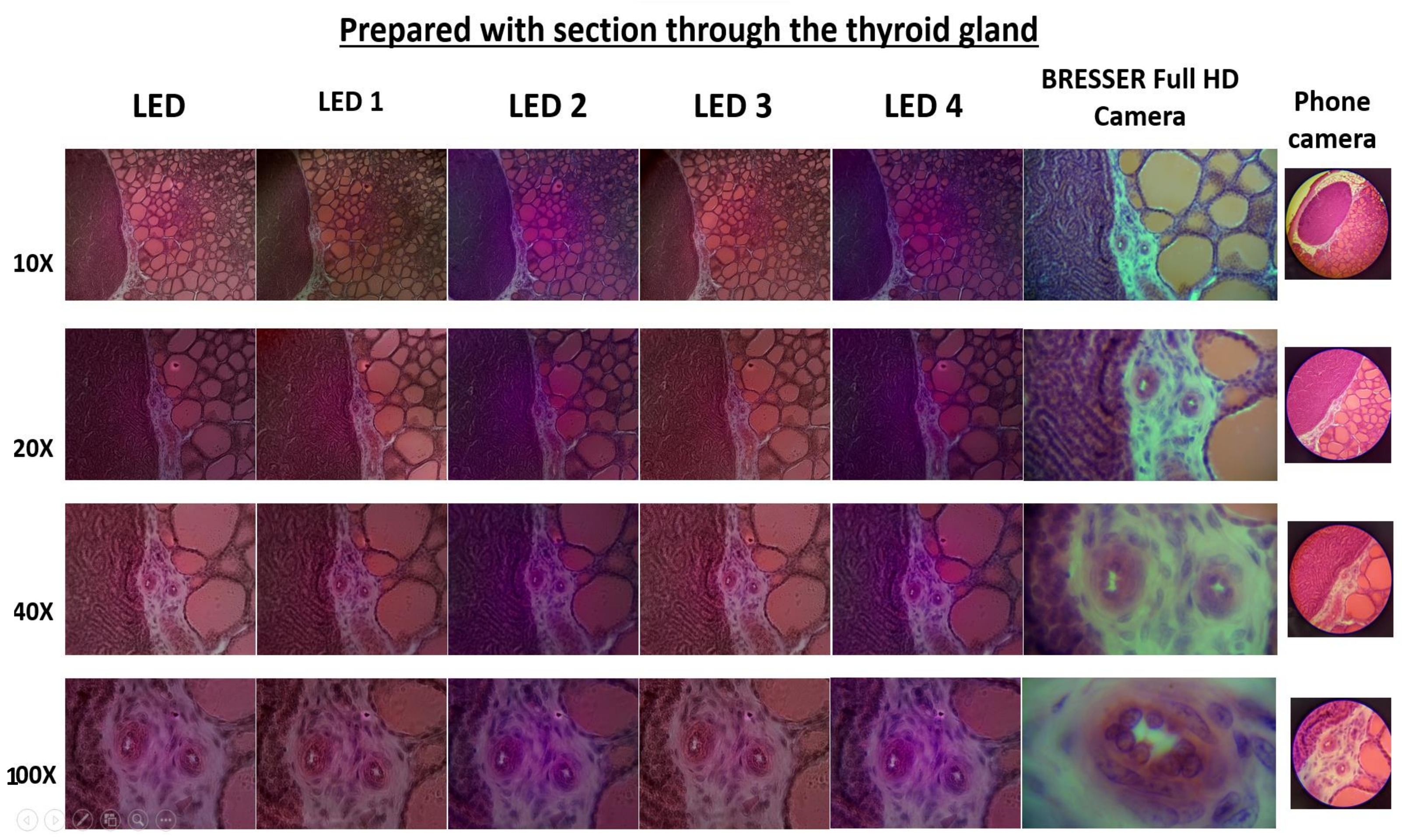


Figure 2. Finding the right LED

4. Using the microscope

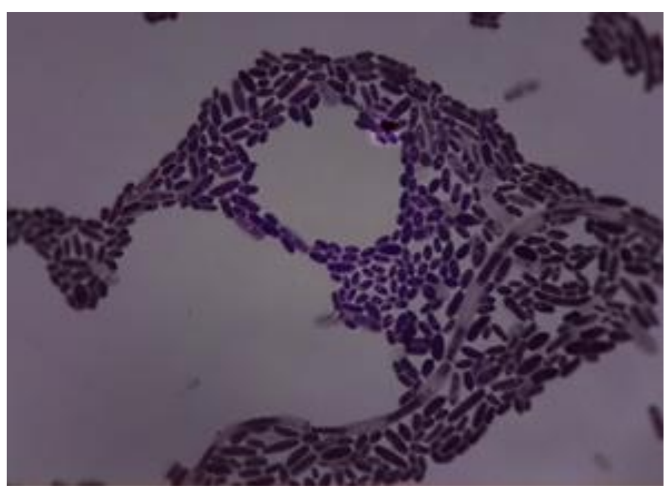


Figure 3. Candida albicans OpenFlexure (100 X)

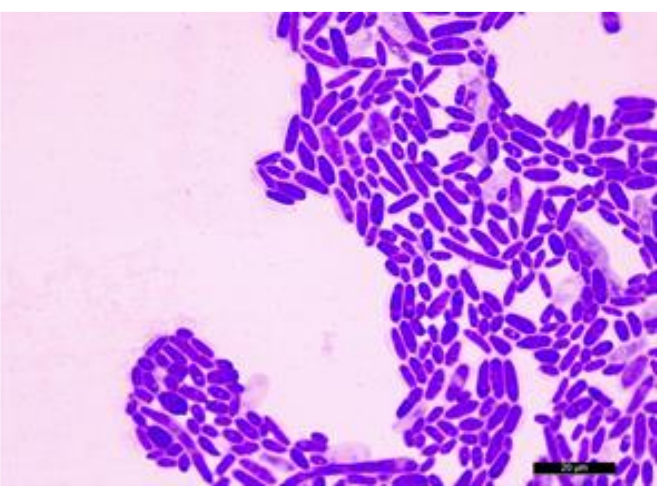


Figure 4. Candida albicans Leica DM 1000 (100 X)

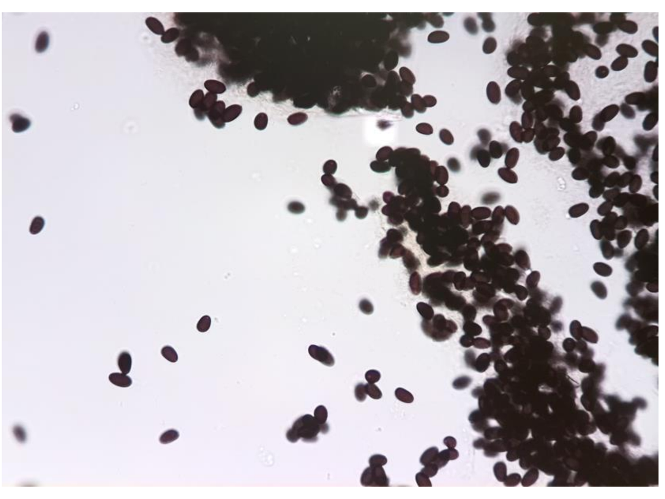


Figure 5. Fungal spors OpenFlexure (40 X)

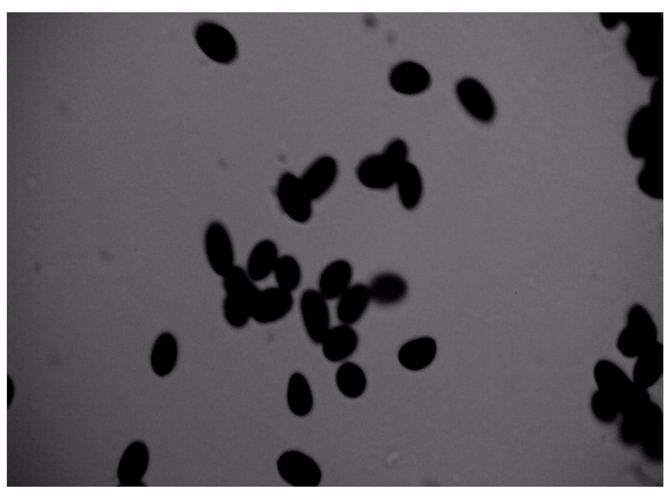


Figure 6. Fungal spors Optika B157R-PL (40 X)

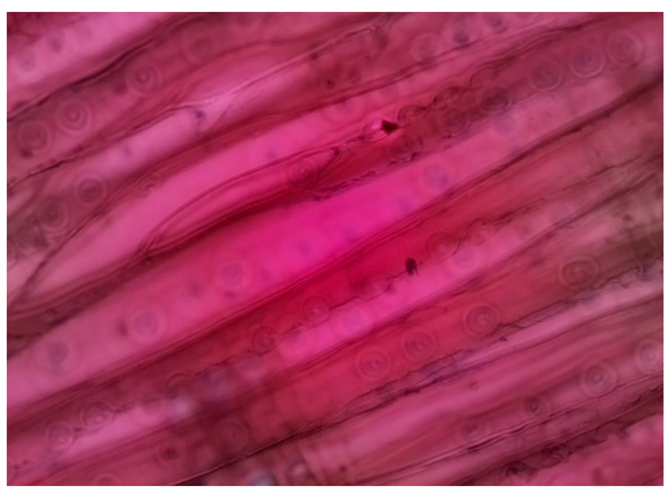


Figure 7. Slides with plant origin structure OpenFlexure (40 X)

Figure 8. Slides with plant origin structure Olympus BX41 (40 X)

5. Conclusions

The advantages of the OpenFlexure microscope are: a more affordable price, it is easy to transport, it is more attractive for the educational environment, it can be controlled remotely, the image can be viewed on several devices at the same time and captures can be easily made with the built-in camera.

The disadvantages of the OpenFlexure microscope are: the power light of the LED is low, the condenser lens is poor, and its structure is not very robust.

Over all, in a controlled environment, the 3D printed microscope could replace professional microscopes and provide good-enough images.

Center of Functional Genetics, Moldova State University

Republic of Moldova, MD-2028, Chisinau, Academiei street, 3/2, *e-mail: bivolinga@yahoo.com

GENETIC DIVERSITY AND RELATIONSHIPS IN *OROBANCHE CUMANA Wallr.* GERMPLASM COLLECTION FROM THE BLACK SEA BASIN DETECTED BY ISSR MARKERS

Duca Maria, Bivol Ina *

INTRODUCTION

Genetic relatedness and population structure are essential condition for wider natural distribution, stronger environmental adaptability, survivability and evolutionary potential of a species in changing environmental conditions [Liu, 2015]. These aspects of evolutionary and population genetics are determined by the interaction of some distinct processes: gene flow, genetic drift, natural selection and mating system of plants. Evaluation of genetic diversity of the parasitic species *O. cumana* Wallr. is important tool in race characterization, extent and pattern of gene flow and establishing phylogenetic relationships, thereby contributing to understanding population dynamics, occurrence trends of new differences and genetic relationships among populations.

The purpose of this study was to investigate the genetic diversity and genetic differentiation in 23 different origin broomrape populations from the Black Sea basin based on the ISSR molecular markers.

MATERIAL AND METHODS

23 broomrape populations were collected from infected sunflower fields in different geographical regions. Seeds of *O. cumana* Wallr. were germinated on sunflower roots in the greenhouse. Fresh tissue samples from each population were collected and stored at –70°C until DNA extraction. In total 269 accessions were included in a comparative study on genetic diversity as well as genetic structure analysis of populations.

Origin of studied *O. cumana* populations

Nr	Code	Population	Race	Number of accessions
		BULGARIA		
1	B1	Debovo/Pleven/ Nikopol	G	12
2	B2	Selanovtsi/Vratsa/ Oryahovo	G	12
3	B3	Radnevo/Stara Zagora/ Radnevo	H	12
4	B4	Rosenova/Dobrichka/ Dobrich	H	12
		TURKEY		
5	T1	Keşan/Edirne/Thrace	H	9
6	T2	Adana	H	7
7	T3	Merkez/Edirne/Thrace	H	7
8	T4	Luleburgaz/ Kirklareli/ Thrace	H	7
9	T5	Trakia	G	11
		REPUBLIC OF MOLDOVA		
10	RM1	Izbişte/Criuleni	H	12
11	RM2	Svetlii/Comrat	H	12
12	RM3	Taraclia	H	11
13	RM4	Soroca	H	12
14	RM5	Alexander field/Cahul	H	8
15	RM6	Bălţi I	H	12
16	RM7	Bălţi II	H	11
17	RM8	Prepeliţa/Sîngerei	H	12
18	RM9	Grigorievca/Căuşeni	H	12
19	RM10	Popeasca/Stefan Voda	G	21
20	RM11	Chisinau	G	22
21	RM12	Căzăneşti/Teleneşti	E	11
22	RM13	Congaz/Comrat	E	12
		ROMANIA		
23	R1	Brăila	H	12

ISSR primers used in this study

Nr	Primer code	Sequence (5′→ 3′)	NBN	GC, %
1	BC 807	agagagagagagagagt	17	47
2	BC 810	gagagagagagagagat	17	47
3	BC 835	agagagagagagagagyc	18	56
4	BC 841	gagagagagagagagayc	18	56
5	BC 857	acacacacacacacacyg	18	56
6	$(CAA)_5$	caacaacaacaacaa	15	33
7	$(GACA)_4$	gacagacagacagaca	16	50
8	$(CA)_6RG$	cacacacacacarg	14	57
9	$(CTC)_4RC$	ctcctcctcctcrc	14	71
10	$(CAG)_5$	cagcagcagcagcag	15	67
11	$(CT)_8TC$	ctctctctctctctcttc	18	50
12	$(CA)_6AC$	cacacacacacaac	14	50
13	$(AG)_8YA$	agagagagagagagagya	18	50

Total genomic DNA was extracted using Thermo Scientific GeneJET Plant Genomic DNA Purification Mini Kit#K0791 *(Thermo Fisher Scientific,* US). The amplification was performed in the thermocycler Genset 9700 "Applied Biosystems" [Sambrook, 2001]. Reaction conditions were: I) Td (95ºC) 5 min – 1 cycle; II) Td (95ºC) 30s, Ta (45 ºC) 45s, Te (72ºC) 2 min – 35 cycles; III) Te (72ºC) 5 min – 1 cycle. The PCR products were subjected to 2% agarose gels electrophoresis, ethidium-bromide stained and visualized on transilluminator under UV. The molecular size of amplicons was estimated with GeneRuler Express DNA Ladder, ready-to-use SM1553 (*Thermo Fisher Scientific*, US). The DNA amplified fragment analysis was carried out with the Photo-Capt V.15.02 program.

Parameters of descriptive population genetic statistics were calculated to evaluate genetic diversity by the POPGENE V.1.32 software. The Euclidean genetic similarity matrix was used to construct dendrogram by UPGMA as well as to conduct principal component analysis (PCA) using software packages XLSTAT 2014 and STATISTICA 12. AMOVA test as implemented in GenAlex 6.501 was used to analyse of the genetic diversity and genetic structure of broomrape populations.

RESULTS AND DISCUSSIONS

On the basis of the descriptive population genetic statistics (observed number of alleles Na=2.000, effective number of alleles Ne=1.375, Nei's gene diversity H=0.234, Shannon's Information index I=0.371, total gene diversity Ht=0.242, gene diversity within populations Hs=0.175, coefficient of gene differentiation among populations Gst=0.278, gene flow among populations Nm=1.299) was revealed a significant level of the intrapopulation diversity at species level.

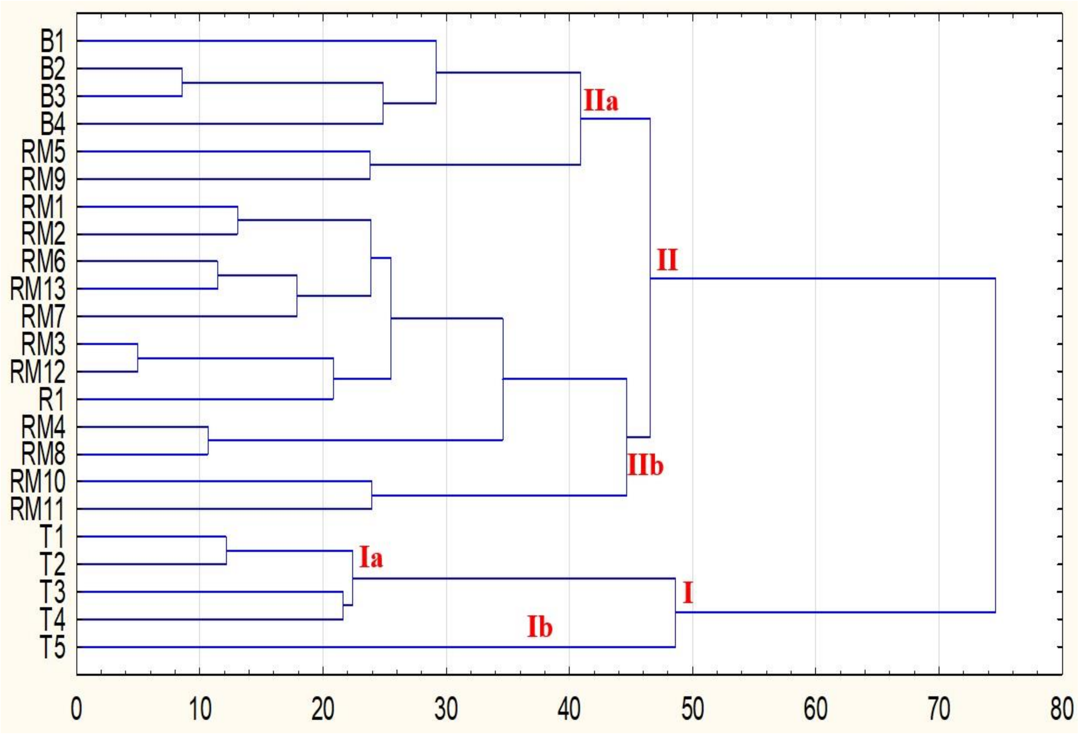
Genetic diversity parameters and genetic differentiation using 13 ISSR markers

	Sample size	Na	Ne	H	I	Ht	Hs	Gst	Nm (Gst)	Nm (Gcs)	NPL	PPL
Mean	269	2.00	1.375	0.234	0.371	0.242	0.175	0.278	1.299	0.580	331	100
SD		0.00	0.325	0.165	0.219	0.028	0.017	-	-	-	-	-

AMOVA analysis of *O. cumana* populations based on ISSR

Source of variation	Degree of freedom	Sum of squares	Mean squares	Estimate of variance component	Percentage of total variation, %	Phi statistics
Among countries	3	2461.451	820.484	12.694	28%	0.281
Among pops	19	3760.405	197.916	15.443	34%	0.474
Within pops	246	4209.907	17.113	17.113	38%	0.622
TOTAL	268	10431.8	-	45.251	100%	P<0.001

These data were also corroborated by AMOVA analysis, demonstrating the higher genetic differences within populations (38%), lower level - among the populations(34%) and the lowest - among countries (28%).

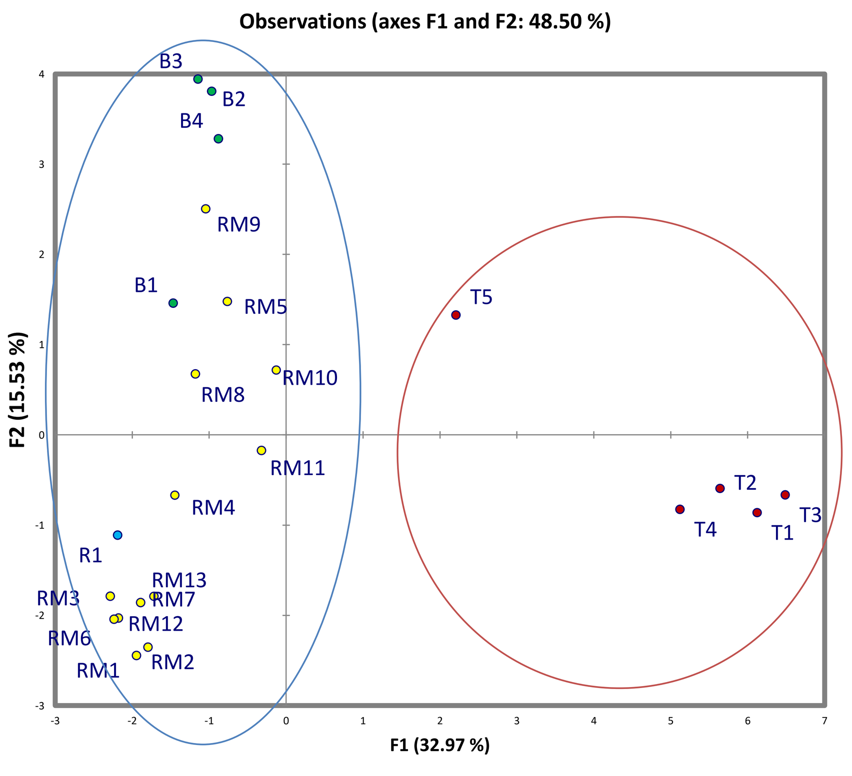


UPGMA dendrogram

Two different methods of multivariate analysis, PCA and cluster analysis were used to group the broomrape accessions by means of genetic distances. The resultant dendrogram based on UPGMA clearly divided 23 populations by region into two main clusters, which in their turn separated into several subclusters.

Group-I is based on the collections procured from different locations of the extreme southeast of the Balkan and south part of Anatolian Peninsulas, i.e. related more to the Middle East.

Group-II is based on the collections from several areas of the northeast and east of the Balkan Peninsula included in East Europe. These research findings would suggest that Moldavian, Bulgarian and Romanian populations are closely related as they may share some of the genetical traits, which could point to a monophyletic origin. PCA analysis was also consistent with the clustering results of the UPGMA.



PCA plot among broomrape populations

CONCLUSIONS

In essence, our results demonstrated the effectiveness of ISSR marker systems in elucidating population structure and genetic variability at the species level.

As a whole, all findings of this study showed that there is a high intrapopulation diversity of broomrape, whereas low differentiation has been observed among populations. Basing on these results, it is possible to conclude the existence of one main gene pool of *O. cumana* in the Black Sea basin, comprising the populations from Bulgaria, Turkey, Moldova and Romania which is supported by regular gene flow among populations in this genepool.

However, it must be noted method of clustering and PCA revealed that Moldavian, Bulgarian and Romanian broomrapes share more genetical traits each other than with Turkish populations within one main gene pool of *O. cumana* in the Black Sea basin. Moreover, these results indicate that groupings of broomrape were determined partly by its geographic origin, as well as by the genetic differences and similarities accumulated through time, and not associated with virulence.

Anatomia comparată a lăstarului de la unele varietăți horticole ale speciei *Syringa vulgaris*

Gostin Irina Neta, Facultatea de Biologie, Universitatea Alexandru Ioan Cuza din Iași, Iași, România
Văcărița Gabriela, Facultatea de Biologie, Universitatea Alexandru Ioan Cuza din Iași, Iași, România

1. Introducere

Genul *Syringa* aparține familiei Oleaceae și cuprinde un număr de aproximativ 25 de specii native din Europa și din Asia, care cresc sub formă de arbusti sau arbori de dimensiuni reduse.
Speciile acestui gen au utilizări variate, fiind cunoscute și intens utilizate ca plante ornamentale, din flori se extrage un ulei volatil de calitate superioară, folosit în parfumerie, iar parți ale plantelor au fost utilizate din cele mai vechi timpuri în medicina tradițională.
La ora actuală există peste 800 de varietăți hoticole provenite din specia sălbatică *Syringa vulgaris* (cf. Rudolf et al., 2008).
În literatura de specialitate consultată am găsit puține date referitoare la anatomia lăstarului la specii din genul *Syringa*, majoritatea datelor anatomice vizează fie structura lemnului secundar, fie pe cea a unor organe din sfera reproducătoare (seminte – Ghimire et al, 2018, piesele florale – Jedrzejuk și Szlachetka, 2005).

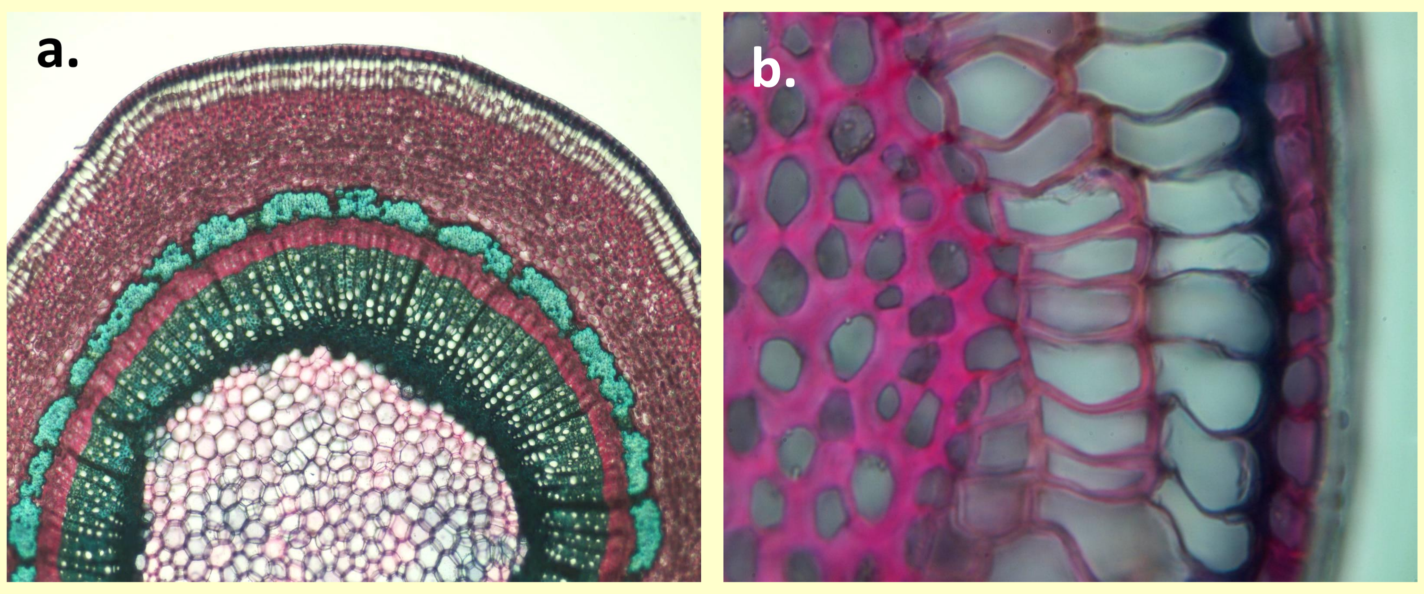
2. Material și Metode

Materialul biologic prelucrat este reprezentat de patru varietăți hoticole ale speciei ornamentale: *Syringa vulgaris* și anume var. *Mimetifolia,* var. *Jose,* var. *Primrose* și var. *Sensation* și specia sălbatică. Materialul a fost recoltat din Grădina Botanică „Anastasie Fătu", din Iași, fiind conservate de la fiecare specie/varietate frunze cu pețiol și fragmente de tulpină de un an.
Materialul a fost prelucrat prin tehnicile clasice utilizate în laboratorul de histo-anatomie vegetală, colorația dubla fiind realizată cu Verde iod și Roșu rutheniu. Fotografiile au fost realizate la Microscopul Olympus BX51.

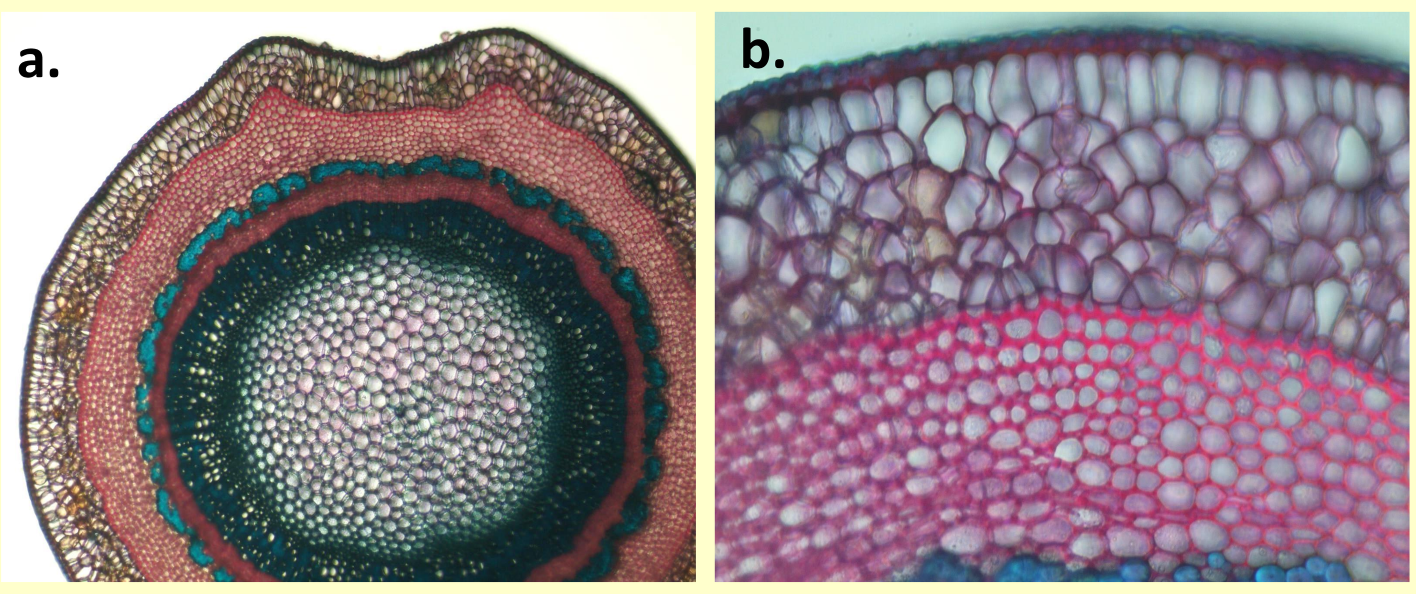
Syringa vulgaris var. *Mimetifolia* | *S. v.* var. *Jose* | *S. v.* var. *Primrose* | *S. v.* var. *Sensation*

3. Rezultate și discuții

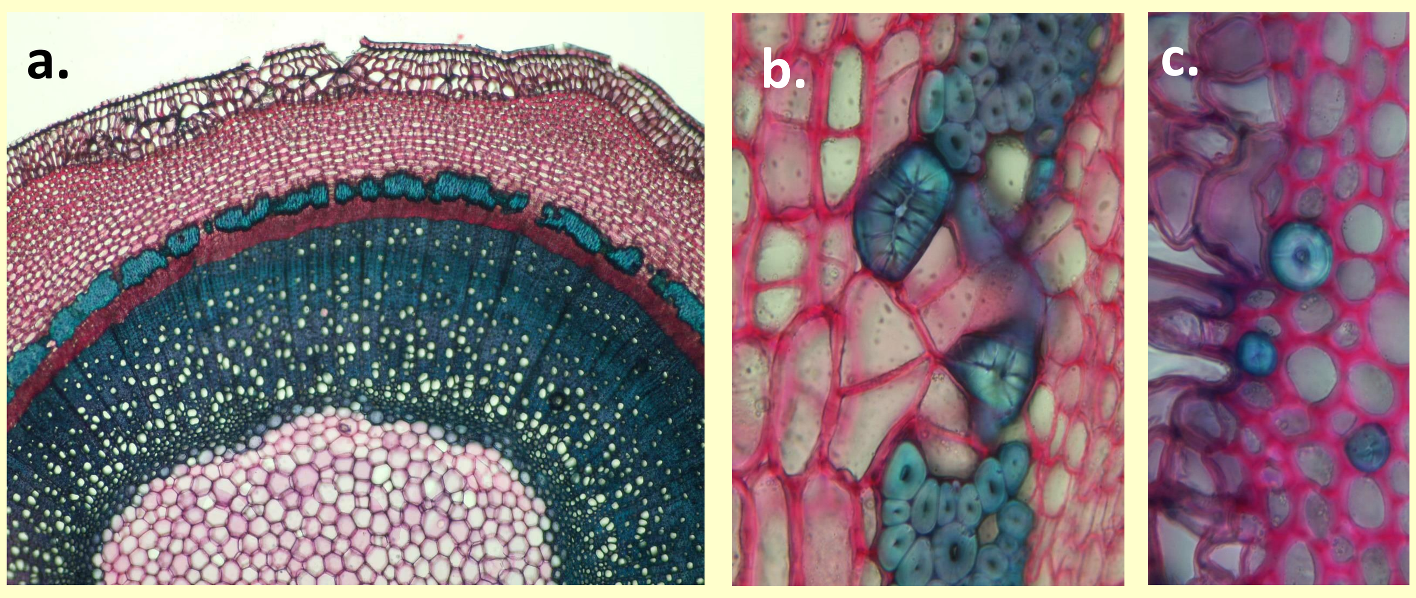
Au fost analizate secțiuni transversale prin tulpină și frunză (pețiol și limbul foliar).



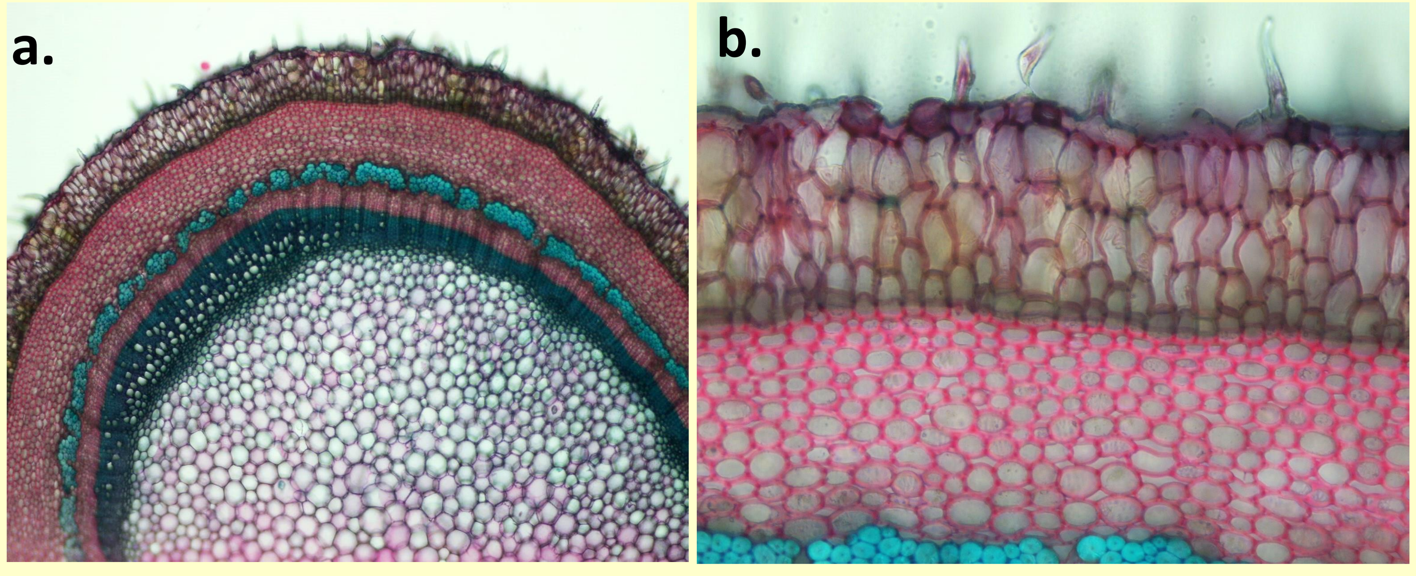
Secțiuni transversale prin tulpina de la *Syringa vulgaris* (a: x100, b: x1000)



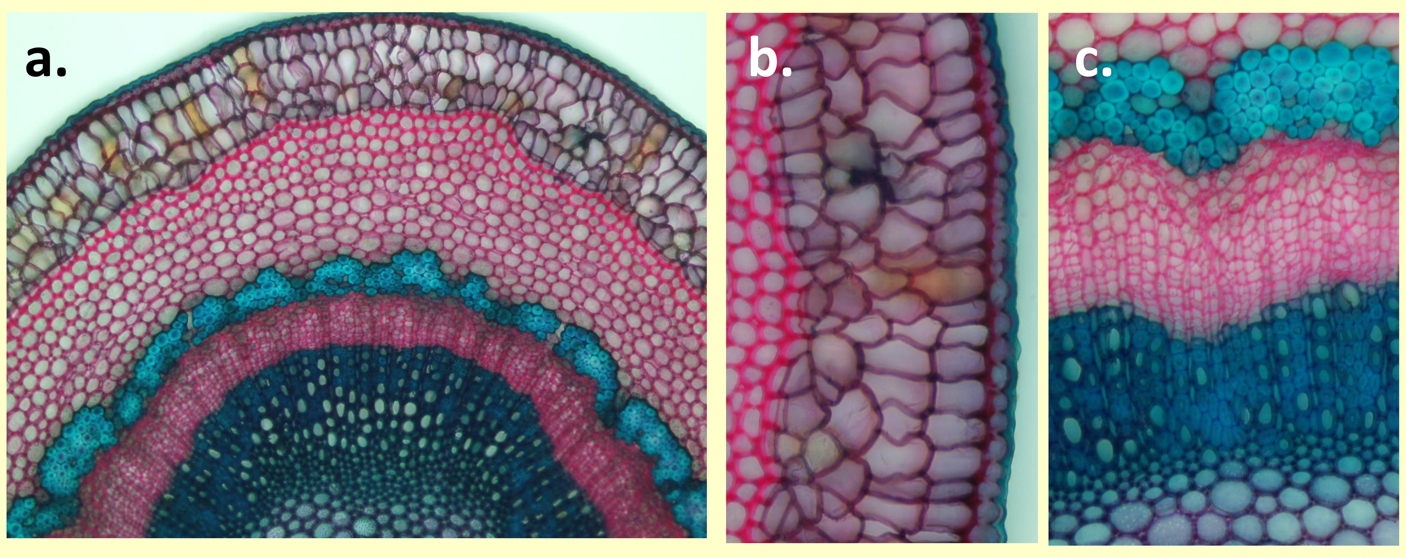
Secțiuni transversale prin tulpina de la *S. v.* var. *Mimetifolia (a: x100, b: x400)*



Secțiuni transversale prin tulpina de la *S. v.* var. *Jose (a: x100, b, c: x1000)*



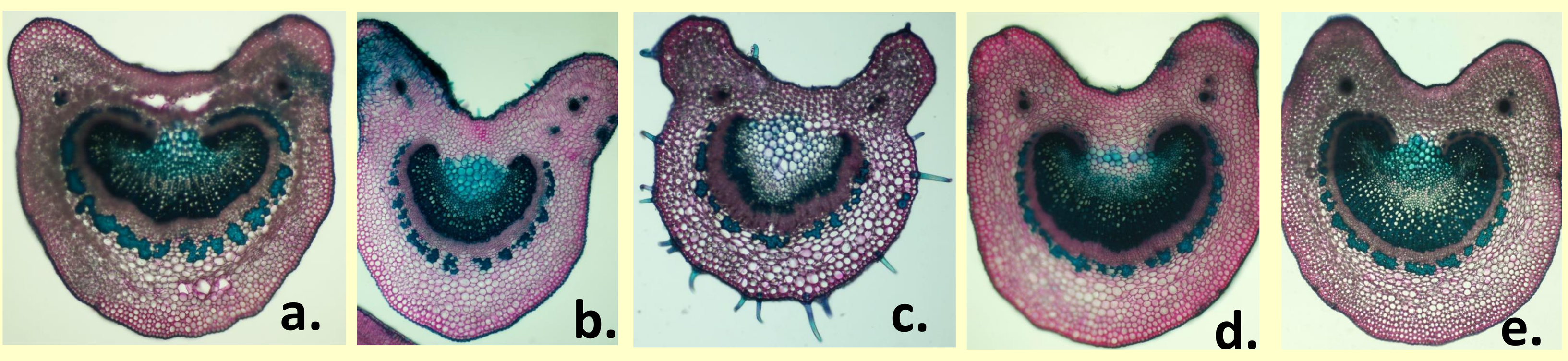
Secțiuni transversale prin tulpina de la *S. v.* var. *Primrose (a: x100, b: x400)*



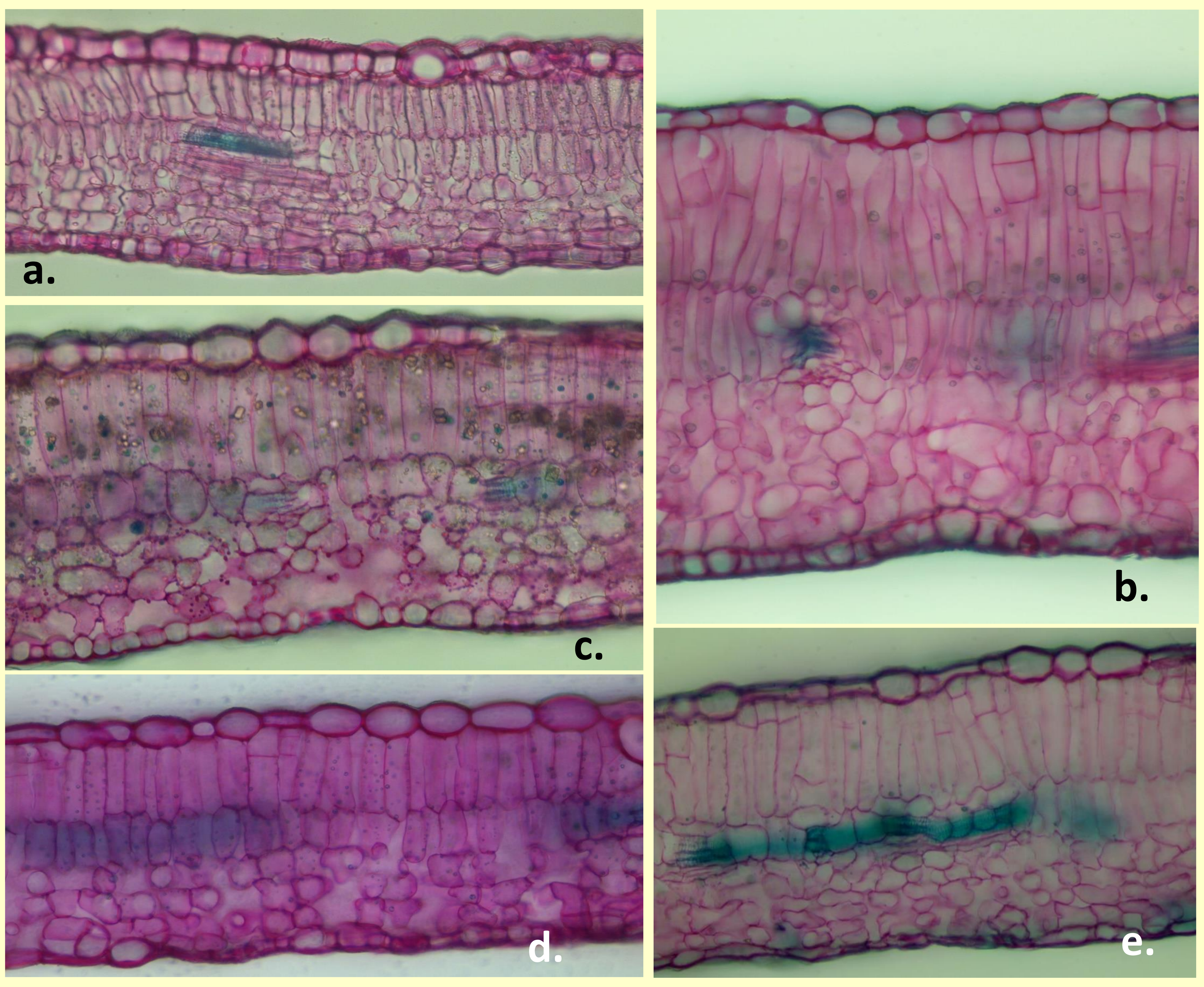
Secțiuni transversale prin tulpina de la *S. v.* var. *Sensation (a: x100, b, c: x400)*

3.1. **Structura tulpinii**: la periferie se observă prezența peridermei; arhitectura suberului, este diferită la varietățile analizate (în ceea ce privește forma celulelor și numărul straturilor de celule). Felodermul este un colenchim tangențial. Țesutul conducător este de natură secundară, dispus sub formă de inele; lemnul secundar este mult mai bine dezvoltat la var. *Jose* și var. *Sensation*, față de var. *Primrose*.Măduva este compactă.

3.2. **Structura pețiolului:** Conturul secțiunii transversale este aproximativ circular sau eliptic cu fața adaxială ușor concavă. La var. *Jose* pe epidermă sunt prezenți numeroși peri tectori unicelulari uncinați; la celelalte varietăți aceștia sunt absenți.
Țesutul conducător este reprezentat printr-un fascicul median foarte mare, de forma unui arc (în secțiune transversală), și 1-2 facicule mici în coaste.
La periferia arcului liberian din fasciculul median se disting fibre de sclerenchim ce formează o zonă discontinuă; la var. *Jose* se observă fibre de sclerenchim izolate și sub epidermă.



Secțiuni transversale prin pețiolul de la *Syringa vulgaris* (a), *S. v.,* var. *Mimetifolia* (b), *S. v.* var. *Jose,* (c), *S. v.* var. *Primrose* (d), *S. v.* var. *Sensation* (e) (x100)



Secțiuni transversale prin limbul foliar de la *Syringa vulgaris* (a), *S. v.,* var. *Mimetifolia* (b), *S. v.* var. *Jose,*(c), *S. v.* var. *Primrose* (d), *S. v.* var. *Sensation* (e) (x400)

3.3. **Structura limbului foliar** : Structura limbului este bifacială dorsiventrală cu țesut palisadic uni, bi sau tristratificat, format din celule alungite, dispuse perpendicular pe epiderma superioară și țesut lacunos.

Concluzii

Deși planul general de structură al organelor vegetative este același la varietățile analizate, există diferențe semnificative în ceea ce privește difetite caractere histo-anatomice care pot fi utilizate în diferențierea acestora.

Bibliografie selectivă

1. Rudolf, P. O.; Slabaugh, P. E.; Shaw, N.L., Syringa L.: lilac, 2008. In Bonner, Franklin T.; Karrfalt, Robert P., eds. The Woody Plant Seed Manual ,Agric. Hdb No. 727. Washington, DC. U.S. Dpt. of Agriculture., Forest Service. 1083-1086
2. Ghimire, B., Jeong, M. J., Suh, G. U., Heo, K., Lee, C. H.,2018. Seed morphology and seed coat anatomy of Fraxinus, Ligustrum and Syringa (Oleeae: Oleaceae) and its systematic implications. Nordic J. Bot., 36(10), e01866.
3. Jedrzejuk, A., Szlachetka, W., 2005. Development of flower organs in common lilac (Syringa vulgaris L.) cv. Mme Florent Stepman. Acta Biologica Cracoviensla. Series Botanica,, 42.2: 41-52.

Scientific Session of the Faculty of Biology
New trends in Biology: from molecules to complex systems
27-28 Octomber 2022, Iași, Romania

“Alexandru Ioan Cuza” University of Iași

Romanian Academy, Iaşi Branch

Trepaned human skull discovered in a necropolis of 17th-19th centuries from Iaşi (Romania)

Vasilica-Monica Groza[1,2], Luminița Bejenaru[1,2,*], George Bilavschi[1,3], Ludmila Pîrnău[1,3], Ozana-Maria Petraru[1,2], Mariana Popovici[1,2]

[1]*Alexandru Ioan Cuza University of Iași, Faculty of Biology, Carol I Blvd., no. 20A, Iași, Romania;*
[2]*Romanian Academy – Iași Branch, “Olga Necrasov” Center of Anthropological Research, Th. Codrescu, No. 2, Iași, Romania*
[3]*Romanian Academy – Iași Branch, Institute of Archaeology, Th. Codrescu, No. 6, Iași, Romania*
*Corresponding author: moni_ian@yahoo.com

Introduction

In this study, a case of double trepanation is reported, found in a sample of human skeletons dated for 17th and 19th centuries, from the necropolis of “Vulpe” Church in Iași (Romania) (Fig. 1, 2), excavated during 2019-2020 archaeological campaign.

Cranial trepanation is an invasive procedure, performed *intra-vitam* or *postmortem* with certain specific tools and techniques, resulting in the opening of skull and, most often, the detachment of a bone fragment (Ortner, 2003; Campillo, 1994).

Trepanation has been practiced in many ancient cultures dating as far back as the Late Paleolithic to this century, and it has been detected in locations widespread in every part of the world. Being an extremely aggressive intervention on the human body, the trepanation (craniotomy, in medical terms) is made with different purposes: medical, symbolic, or magical-religious (Ortner, 2003). The first case of prehistoric trepanation reported is that of the Neolithic skull from Cuzco-Peru, observed and analyzed by anthropologist E.G. Squier, while visiting Peru, between the years 1863-1865 (Brothwell, 1981).

Regarding the scientific study of trepanation in Romania, we mention some of the important works signed by authors concerned over time with the reconstruction of the oldest prehistoric surgical practices: Necrasov (1977), Botezatu et al., (1987), Miu (2006), Comşa (2008), Moldovan (2003), Dunăre (1966), Arseni and Ciurea (1981), Bercuş (1981). In Romania, for the pre-medieval and medieval period, the evidence of some surgical practices is limited to three cases. In the 4th century necropolis from Mihălăşeni-Botoşani, the presence of a trepanated skull belonging to a child (10-11 years - *infans II*) was identified (Botezatu and Miu, 1991). According to literature, this is the only case of trepanation on a child's skull and is the oldest trepanated skull in the Balkan Peninsula in our era (Miu, 2006). Later, the archeological excavations carried out in the Histria fortress, highlighted three tombs (dated with the 7th century); the skeleton discovered in the tomb coded M2 present at the level of the skull an “old, healed” trepanation (Floru and Nicolaescu-Plopşor, 1960). Later, following the archeological researches carried out in the necropolis from Hunedoara (dated to the IV-XII centuries), between the burials of the XI-XII centuries, a skull with a left parietal trepanation with traces of healing was discovered (Kurt Horedt, 1956).

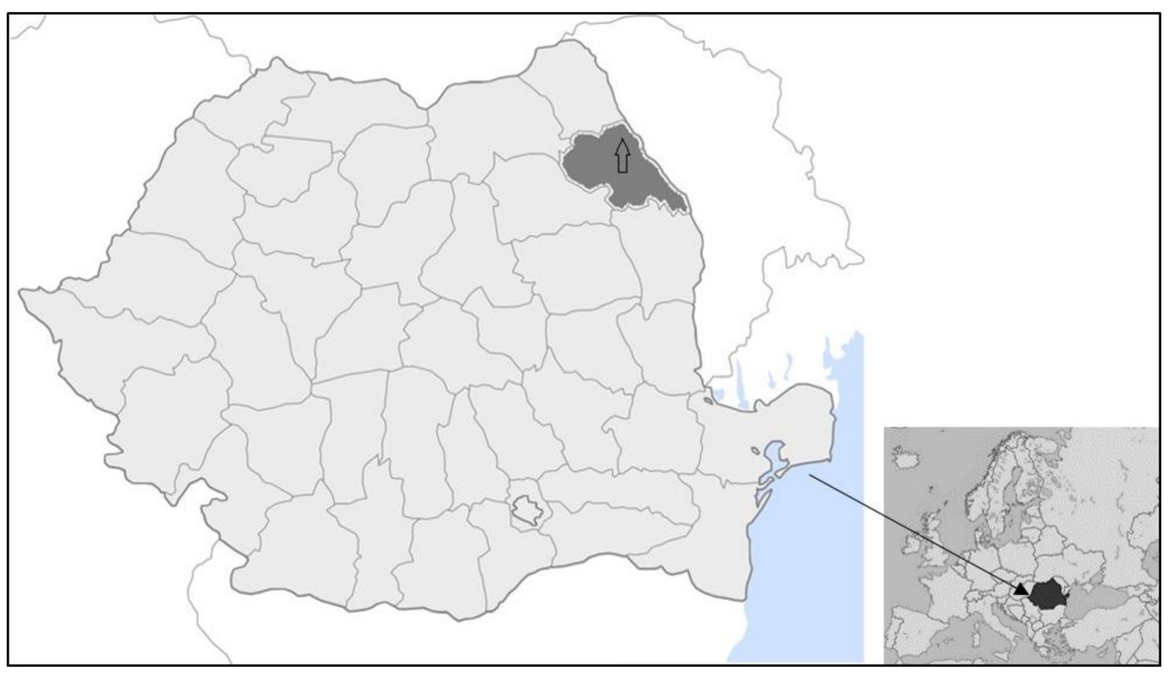


Fig. 1. Location of the necropolis (Iaşi County, Romania) (N47.156392, E27.587453).

Fig. 2. The necropolis of the “Vulpe” Church in Iaşi; position of Skeleton M243 in C243 (Photo: archaeologist PhD George Bilavschi).

Material & Methods

The skeleton, codified M243, is well preserved. Age at death was estimated by a combination of several criteria: pubic symphysis degeneration and sacro-iliac surface transformation (Schmitt, 2005); changes in the spongy tissue from humeral and femoral epiphyses; morphology of the rib sternal end; dental attrition (Brothwell, 1981; Lovejoy, 1985); cranial suture obliteration (Buikstra and Ubelaker, 1994). Estimation of sex was based on the following aspects: mandible robustness, teeth shape and size (Walrath *et al.*, 2004); pelvis characteristics (Bruzek, 2002); skeleton’s massiveness and robustness (Buikstra and Ubelaker, 1994). The trepanation was diagnosed and analysed based on the macroscopical examination (Aufderheide, Rodriguez-Martin, 1998; Ortner, 2003).

Results

The case of trepanation, described in this study, was identified in a skull belonging to an adult male of 35-40 years old (Fig. 3). Two perforations were identified on the parietal bones, diagnosed as trepanations. The craniotomy was realized *intra-vitam*, most probably for medical/therapeutic purpose. Both openings of the skull are approximately oval (one is located on the right parietal near the temporal, and having 78/49 mm (Fig. 4 – a, b); other one is located on the left parietal near the sagittal suture, and having 52/26 mm (Fig. 5 – a, b); they were probably made by the scraping method with a flat implement used in a rotary movement on the bone surface, which was eroded to the formation of a complete holes. Our analysis shows that in the case of the right perforation there was an osseous regeneration which means that the individual survived for a time after the operation (Fig. 4 – a, b). In the case of the left perforation, there is no evidence for a tendency to closure of it (Fig. 5 – a, b). A tripartite Inca bone or Interparietal bones were located about the lambda (Fig. 5 – a).

Fig. 3. Skull M243 – norma *facialis*; ♂, 35-40 years old.

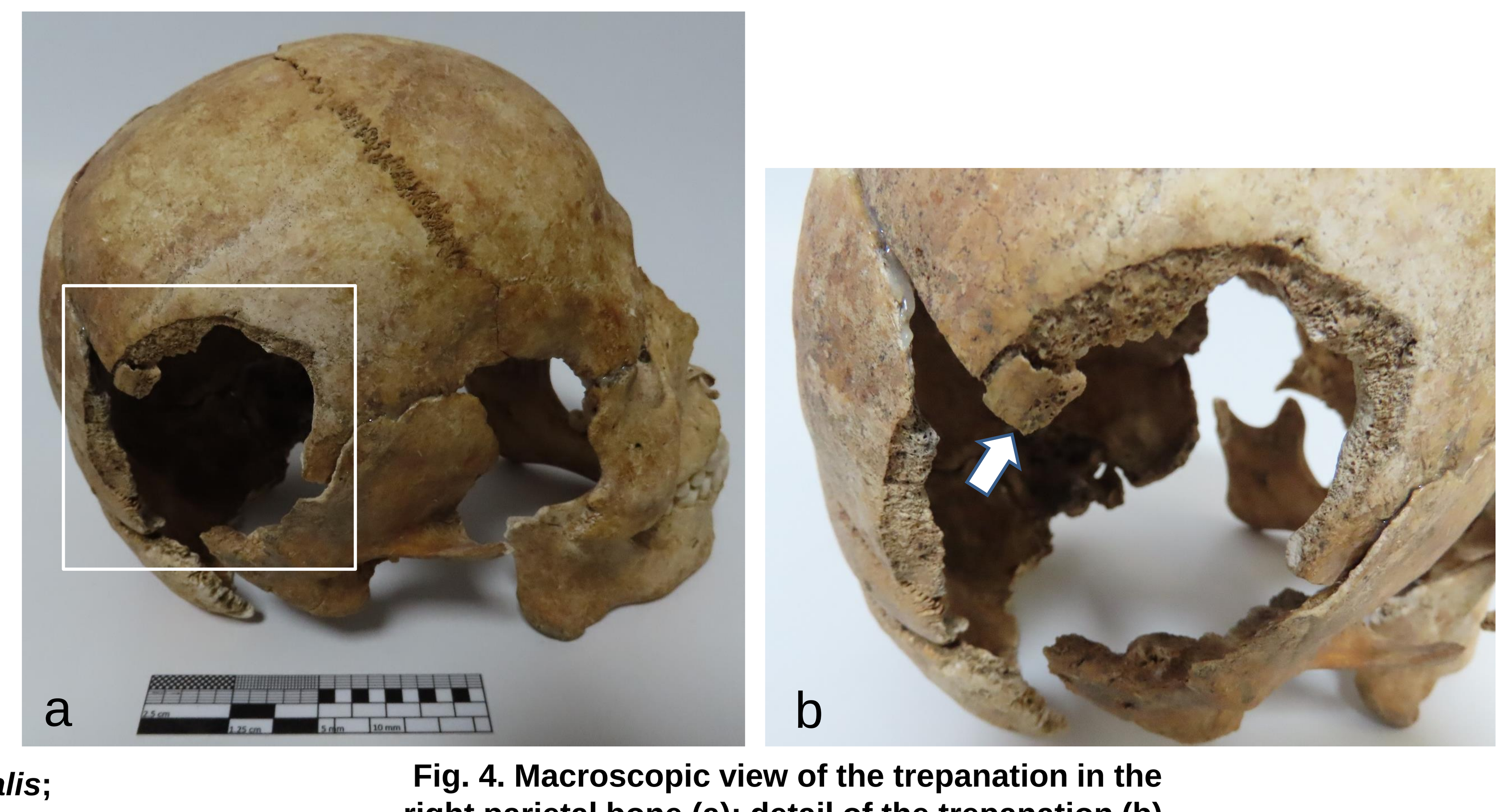


Fig. 4. Macroscopic view of the trepanation in the right parietal bone (a); detail of the trepanation (b).

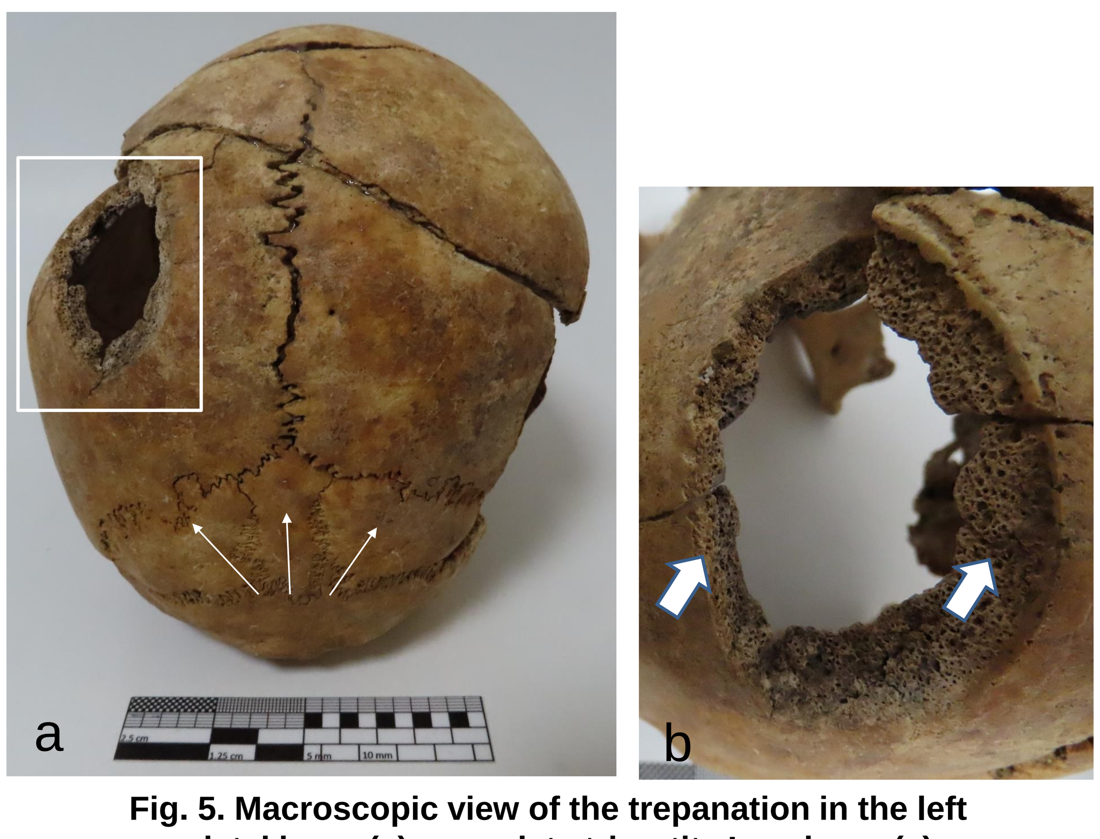


Fig. 5. Macroscopic view of the trepanation in the left parietal bone (a); complete tripartite Inca bone (a); b. detail of the trepanation (b).

Conclusions

In the skeletal sample of 17th-19th centuries discovered at the necropolis of “Vulpe” Church in Iași, a case of double trepanation was identified – in the skull of an adult male, on the parietal bones. The trepanation was diagnosed and analysed based on the macroscopical examination.

Probably the intervention had a medical/therapeutic purpose to combat internal cranial lesions (convulsions, hematoma or even a brain tumor). In the analysed skeleton, the trepanation could be associated with a tripartite Inca bone. The presence of interparietal bones or Inca bones is multifactorial. Some authors reported the presence of Inca bones to be associated with other cranial and nervous system abnormalities.

Acknowledgments

This work was supported by a grant of the Ministry of Research, Innovation and Digitization, CNCS - UEFISCDI, project number PN-III-P4-PCE-2021-1180, within PNCDI III.

References

Arseni C., Ciurea A. V. 1981. *Istoricul neurochirurgiei româneşti*. Bucureşti.
Aufderheide A. C., Rodriguez-Martin C. 1998. *Cambridge Encyclopedia of Human Paleopathology*. Cambridge.
Bercuş C. I. 1981. *Pagini din trecutul medicinei româneşti*. Bucureşti.
Botezatu D., Aldea H., Ciugudean H. 1987. Consideraţii asupra unui craniu trepanat descoperit la Livezile (judeţul Alba) aparţinând culturii Coţofeni (începutul mileniului II î. e. n.). *SCA* 24: 3-7.
Botezatu D., Miu G. 1991. Studiul unui craniu trepanat de copil, descoperit în necropola de la Mihălăşeni (sec. III-IV e. n.). *SCA* 28: 9-12.
Brothwell D. R. 1981. *Digging up bones*. London.
Buikstra J., Ubelaker D.H., 1994. *Standards for Data Collection from Human Skeletal Remains*: Research Seminar Series 44, Fayetteville: Arkansas Archaeological Survey.
Campillo D. 1994. *Paleopatología. Los Primeros Vestigios de la Enfermedad, Segunda Parte*. Barcelona.
Comşa A. 2008. *Aspects of Archaic Medicine. Human and animal trephination on the territory of Romania*. Târgovişte.
Dunăre N. 1966. Continuation de la trepanation therapeutique du crane humain par la trepanation veterinaire chez les peuples bergeres de Roumanie. *ARH ANTHR ETN* XCVI, 1/2/3: 81-88.
Floru E., Nicolaescu-Plopşor D. 1960. Craniul trepanat de la Histria. Epoca migraţiilor. Studiu antropologic şi morfo-funcţional. *Probleme de antropologie* V: 55-70.
Horedt K., 1956. Contributii la cunoasterea regiunilor Hunedoara, Deva, III, 113-114.
Lovejoy, C.O. 1985. *Dental wear in Libben Population: Its functional Pattern and Role in the Determination of Adult Skeletal Age at Death.* American Journal of Physical Anthropology, 68: 47-56.
Miu G. Două cranii trepanate identificate în necropola Monteoru de la Cândeşti (perioada Bronzului Mijlociu). *Arheologia Moldovei* XXIX: 209-218.
Moldovan E. 2003. Trepanaţia craniană la culture preistorice din Transilvania. *BCŞS* 9, 5.
Necrasov O. 1977. Nouvelles Donnees sur la Pratique de la Trepanation chez les Populations Prehistoriques et Protohistoriques de Roumanie. *Dounderabdruck aus: Mitteilungen des Anthropologischen Gesellschaft in Wien* CVII: 130-136.
Ortner D. J. 2003. *Identification of Pathological Conditions in Human Skeletal Remains*. Oxford.
Schmitt, A. 2005. *Une nouvelle methode pour estimer l’age au deces des adultes a partir de la surface sacro-pelvienne iliaque.* Bulletin et Mémoires de la Société d`anthropologie de Paris, 17, *1-2*, 89-101.
Walrath D. E., Turner P., Bruzek J. 2004. Reliability test of the visual assessment of cranial traits for sex determination. *AJPA* 125, 132-137.

Bioactivity of Oak (*Quercus* sp.) Bark Extracts

Adrian Nișca[1], Ruxandra Ștefănescu[1], Alexandru Nicolescu[2], Mihai Babotă[2], Anca Delia Mare[3], Cristina Nicoleta Ciurea[3], Andrei Mocan[2], Adrian Man[3], Corneliu Tanase[1]

1.Introduction and Aim

The *Quercus* genus comprises approximately 400 species of evergreen and deciduous trees (oaks) and is one of the most widespread tree groups in Europe, Asia, and the Americas [1]. Because of the abundance of this genus and because of the oak wood's mechanical properties and durability, it has a lot of uses in carpentry, constructions, and furniture production [2]. However, the intense exploitation of this genus results into large amounts of by-products, such as bark and leaves. The potential of these vegetal materials is not harnessed at its fullest, recent studies highlighting the great potential of the plants from the *Quercus* genus to comprise high contents of bioactive compounds with beneficial effects on human health [3–5].

The main objectives of the current study were: (1) the characterization of the phytochemical profile of *Q. petraea* and *Q. pubescens* bark extracts; (2) the evaluation of the biological potential (antioxidant, antibacterial, antifungal, and enzyme inhibitory activity) of *Q. petraea* and *Q. pubescens* bark extracts.

2. Methods

Extraction
- Ultrasound Assisted Extraction (UAE): Milled bark →solvent (water/70% ethanol) treatment →ultrasound treatment for 15 min, 70°C (aqueous extracts); 20 min, 65°C (ethanolic extracts)
- Microwave Assisted Extraction (MAE): Milled bark →solvent (water/70% ethanol) treatment →microwave treatment for 29 min 21 sec, 864 W (aqueous extracts); 17 min 40 sec, 655 W (ethanolic extracts)

Processing
- Volume adjustment
- Vacuum filtration
- Centrifugation (15000 RPM, 10-20 min)
- Freeze drying

Phytochemical characterization
- Redissolved dry extracts (original solvent)
- Treatment with Folin – Ciocâlteu reagent and Na_2CO_3 (5%)
- Absorbance determination at 750nm (UV-Vis spectrphotometer)

Antioxidant capacity
- Redissolved dried extract (50% methanol)
- Treatment with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl – DPPH and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid – ABTS reagents
- Absorbance determination at 517nm (DPPH) and 734nm (ABTS) (Microplate reader)

Antimicrobial activity
- Redissolved dried extracts (5% DMSO)
- Treatment of solutions with bacterial/fungal suspensions in microplate wells
- Incubation at 37 °C for 24 h
- Visual assesment of the MIC
- Plating the solutions from the wells with no bacterial/fungal growth

Enzymatic inhibition
- Redissolved dried extracts (phosphate buffer pH=6.8)
- Treatment of solution with tested enzyme (α-glucosidase, tyrosinase, acetylcholinesterase) in microplate wells
- Incubation for 10 min, room temperature
- Addition of substrate, incubation 20 min
- Absorbance determination at 405nm (α-glucosidase and acetylcholinesterase) and 475nm (tyrosinase) – microplate reader

3. Results

3.1. Total polyphenolic content (TPC) and total tannin content (TTC)

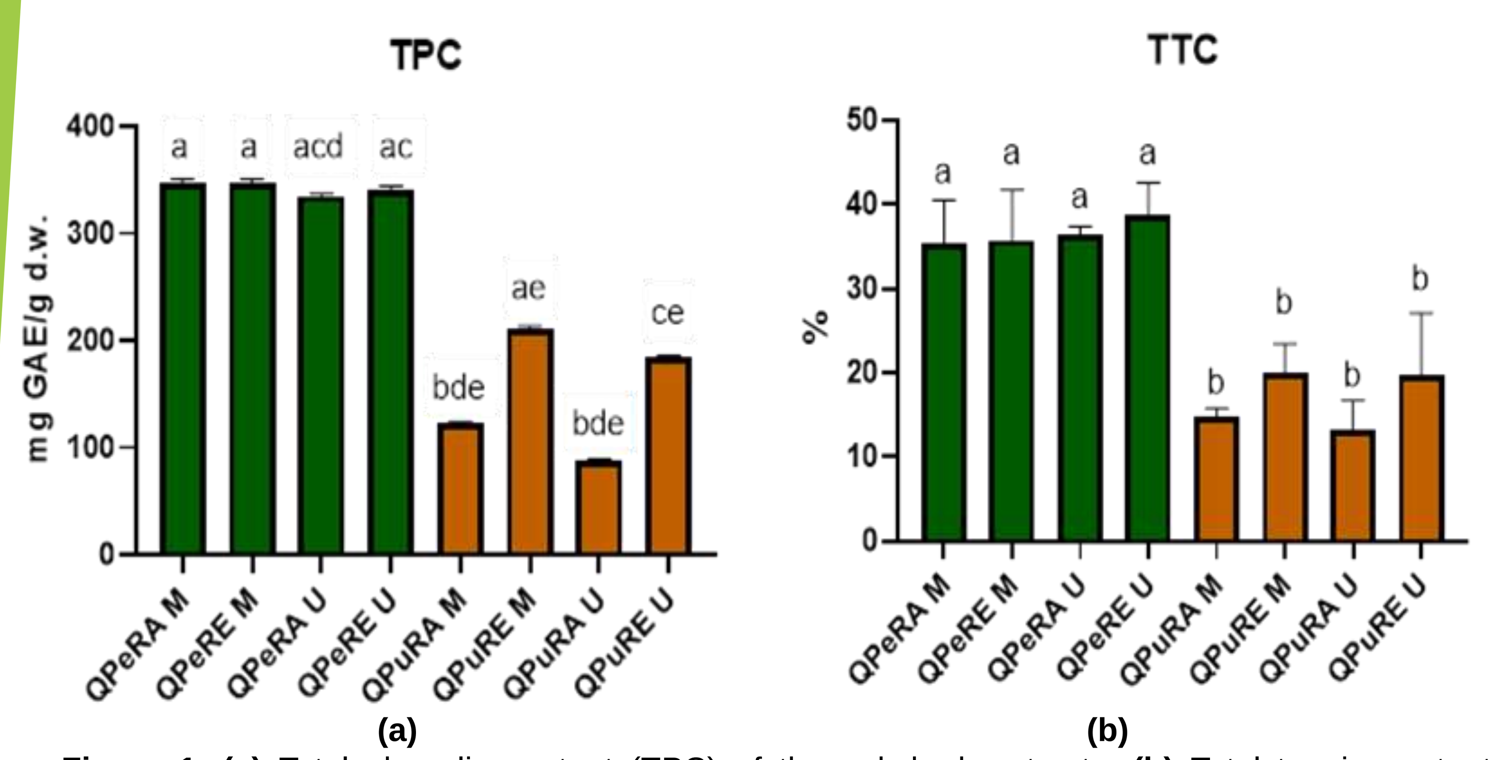


Figure 1. (a) Total phenolic content (TPC) of the oak bark extracts, **(b)** Total tannin content (TTC) of the bark extracts; different letters indicate significant differences; results were expressed as mg GAE/ g d.w (TPC) and as percentage of the TPC (TTC)

3.2. Antioxidant capacity

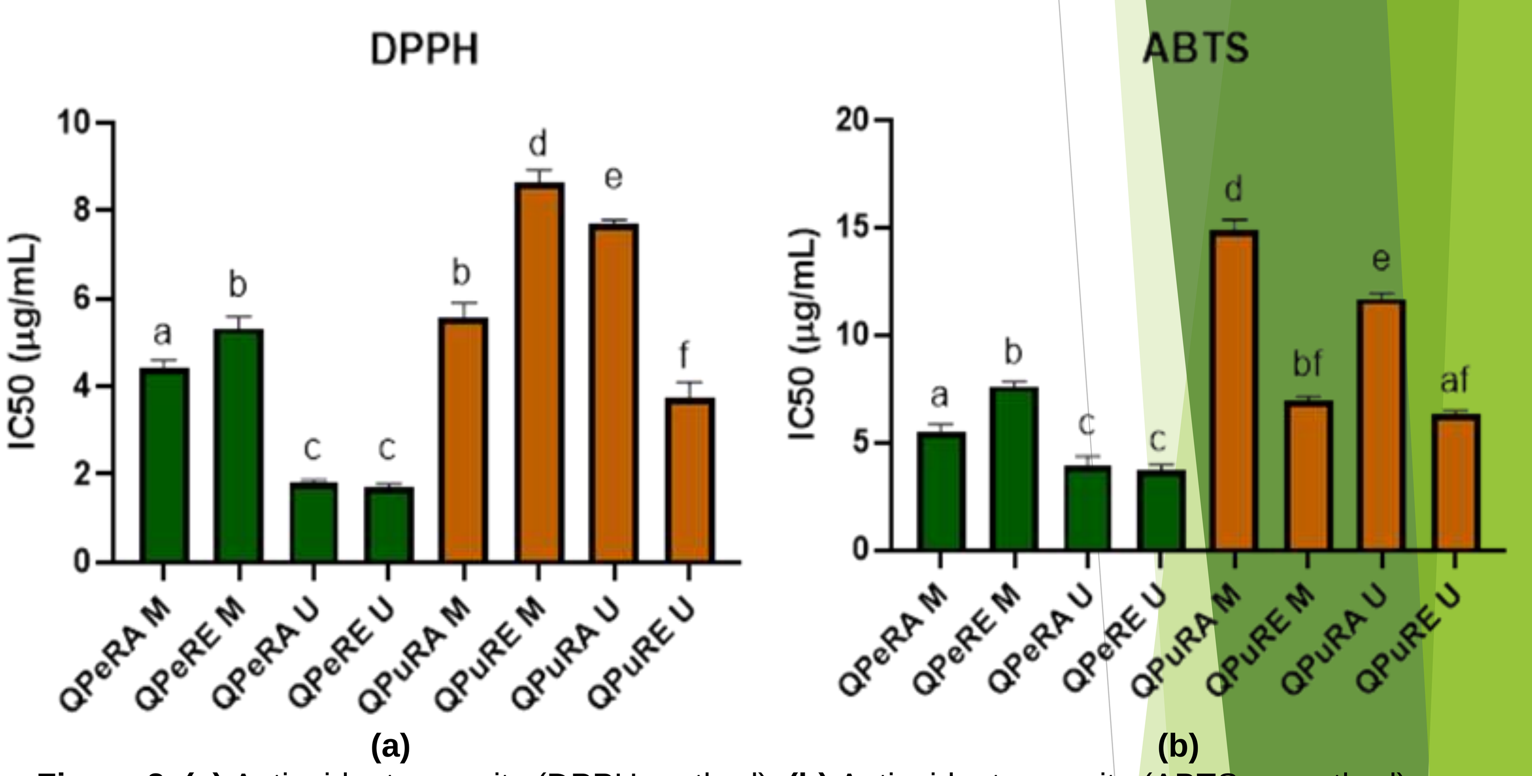


Figure 2. (a) Antioxidant capacity (DPPH method), **(b)** Antioxidant capacity (ABTS method); different letters indicate significant differences; results were expressed as µg freeze dried extract/ mL solution.

3.3. Antibacterial activity

Table 1. MIC and MBC values of the tested extracts against the bacterial and fungal strains results were expressed as mg freeze dried extract/ mL solution (concentration in the microtiter plate wells)

Tested bacteria	MIC/MBC (mg freeze dried extract/mL solution)							
	QPeRA M	QPeRE M	QPeRA U	QPeRE U	QPuRA M	QPuRE M	QPuRA U	QPuRE U
Staphylococcus aureus ATCC 25923	0.3/2.5	0.3/0.3	0.3/1.25	0.156/0.3	2.5/5	0.6/2.5	5/>5	
Methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) ATCC 43300	0.6/0.6	0.3/0.3	0.3/0.3	0.3/0.3	2.5/2.5	0.6/1.25	>5/>5	
Escherichia coli ATCC 25922	>5/>5	>5/>5	>5/>5	>5/>5	>5/>5	>5/>5	>5/>5	
Klebsiella pneumoniae ATCC 700603	0.3/0.3	0.3/1.25	0.3/0.6	0.3/0.3	1.25/1.25	0.3/0.3	5/5	
Pseudomonas aeruginosa ATCC 2753	2.5/5	1.25/1.25	0.6/2.5	1.25/>5	>5/>5	2.5/2.5	>5/>5	
Tested fungi	MIC/MFC (mg freeze dried extract/mL solution)							
Candida albicans ATCC 90028	>5/>5	>5/>5	>5/>5	>5/>5	>5/>5	>5/>5	>5/>5	
Candida parapsilosis ATCC 22019	>5/>5	5/>5	5/>5	>5/>5	>5/>5	5/5	>5/>5	
Candida krusei ATCC 6258	1.25/>5	1.25/>5	2.5/>5	5/>5	>5/>5	2.5/>5	5/>5	

3.4. Enzymatic inhibition

Table 2. IC50 values for the tested solutions against α-glucosidase, tyrosinase and acetylcholinesterase; the IC50 values were expressed as µg dried extract/mL solution.

Tested solution	IC50 (µg/mL)		
	α-glucosidase	Tyrosinase	Acetylcholinesterase
QPeRA M	24.67	459.00	1767
QPeRE M	15.65	472.70	555.1
QPeRA U	48.01	-	2329
QPeRE U	13.54	427.40	1109
QPuRA M	38.56	1434.00	2725
QPuRE M	26.80	650.80	1654
QPuRA U	44.18	-	2227
QPuRE U	38.31	485.30	1090
Control (Acarbose)	489.10	-	-
Control (Kojic acid)	-	17.76	-
Control (Galantamine)	-	-	0.00185

4. Conclusions

- The total polyphenolic and total tannin contents followed the same trend, the *Q. petraea* extracts had higher contents of both TPC and TTC than *Q. pubescens* variants.
- The 70% ethanol solution and the MAE were more efficient for the extraction of polyphenols and tannins for both species
- The antioxidant capacity was also higher for the *Q. petraea* variants, but the UAE was more efficient in extracting antioxidant compounds
- *Q. petraea* extracts were more efficient inhibiting the growth and development of the Gram-positive bacterial strains, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa*, while no activity was observed against *E. coli* at tested concentrations
- Modest antifungal activity was registered for both oak species; *C. krusei* was the most sensitive strain to the oak bark extracts
- Both extracts have shown an inhibitory effect against the tested enzymes, especially against α-glucosidase.
- The results show the potential of *Q. petraea* and *Q. pubescens* bark extracts to be used in future multipurpose nutraceutical formulations.

5. References

1. *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources*; Kole, C., Ed.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2011; ISBN 978-3-642-21249-9.
2. Alejano, R. Dehesas: Open Woodland Forests of Quercus in Southwestern Spain.
3. Burlacu, E.; Nisca, A.; Tanase, C. A Comprehensive Review of Phytochemistry and Biological Activities of Quercus Species. *Forests* **2020**, *11*, 904, doi:10.3390/f11090904.
4. Morales, D. Oak Trees (Quercus Spp.) as a Source of Extracts with Biological Activities: A Narrative Review. *Trends Food Sci. Technol.* **2021**, *109*, 116–125, doi:10.1016/j.tifs.2021.01.029.
5. Şöhretoğlu, D.; Renda, G. The Polyphenolic Profile of Oak (Quercus) Species: A Phytochemical and Pharmacological Overview. *Phytochem. Rev.* **2020**, *19*, 1379–1426, doi:10.1007/s11101-020-09707-3.

6. Acknowledgements

This work was supported by a grant of Romanian Ministry of Education and Research, CNS-UEFISCDI, project number PN-III-P1-1.1-TE-2019-1549, within PNCDI III.

7. Affiliation

[1] *Faculty of Pharmacy, George Emil Palade University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology of Targu Mures, Romania,*
[2] *Faculty of Pharmacy, Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania,*
[3] *Faculty of Medicine, George Emil Palade University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology of Targu Mures, Romania*

Centrul Genetică functională, Universitatea de Stat din Moldova

*Chișinău, strada Academiei 3/2, *e-mail: portang@yahoo.com*

EXPRESIA DIFERENȚIATĂ A GENELOR ÎN MICROSPOROGENEZĂ LA PLANTELE HIBRIDE DE FLOAREA-SOARELUI ÎN RAPORT CU LINIILE PARENTALE

Port Angela*, Duca Maria

INTRODUCERE

Majoritatea cercetărilor asupra fenomenului de heterozis au fost axate pe creşterea vigurozitatii și a productivitatii și relativ mai puțin pe sporirea rezistenței la factorii de stres abiotic. Elementele de productivitate ale plantelor depind de procesele de microsporogeneza și microgametogeneza, foarte sensibile la condițiile climatice nefavorabile care deseori induc androsterilitate. Totodată, însușirea de sterilitatea masculină, în special cea citoplasmatică (ASC) este utilizată în tehnologia de obținere a hibrizilor comerciali la majoritatea culturilor agricole, inclusiv floarea-soarelui. Se cunoaste că citotipul Pet1-ASC, cel mai des utilizat în obținerea hibrizilor la floarea-soarelui, similar altor citoplasme sterile, este rezultatul unor evenimente de recombinare a ADN mitocondrial, determinate de incompatibilitatea intergenomică mitocondrii-nucleu indusă, sau generată spontan în natură.

Anterior, prin investigații comparative ale anterelor fertile și sterile au fost evidențiate 80-90% meiocite cu dezvoltare stopată în pachiten, iar în unele cazuri, butonii floral mai mari de 2,5 mm conțineau un număr mic de microsporocite în diakineză, metafază, anafaza, telofaza ambelor diviziuni meiotice, toate prezentând modificări de formă, dimensiune, anomalii și aberații cromozomiale, sugerând deficiențe în procesele meiotice de replicare și menținere a integrității materialului genetic în microsporogeneză.

Astfel, scopul acestor cercetări a fost de a analiza polimorfismul de expresie al unor gene potențial implicate în metabolismul ADN (reparare, recombinare), în menținerea integrității mitogenomului, procese de morfogeneză și organizare mitocondrială în microsporgeneză la linii consangvinizate care diferă după genotip și fenotipul gametofitului masculin, precum și de a identifica eventuale particularități specifice în profilul transcripțional al hibridului cu nivel inalt de heterozis.

MATERIAL ȘI METODE

Materialul vegetal a inclus liniile consangvinizate de floarea-soarelui, Drofa Rf, Drofa ASC (Pet1) si hibridul comercial Drofa F_1 (AȘP MAGROSELECT, Soroca, Republica Moldova) pentru studiul expresiei genelor. Butonii florali din inflorescențe (R1-R3) au fost supuși analizei macro- și microscopice a fenotipului (Figura 1) și investigațiilor la nivel molecular prin metode standard (izolarea ARN cu TRI Reagent; sinteza ADNc prin utilizarea reagenților RevertAid Reverse Transcriptase, primeri hexameri arbitrari și oligo-dT18; Real-time PCR, reagenți Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix, Real-Time cycler DT-96, DNA technology, Russia).

Au fost analizați transcripții codificați de 14 EST-uri de floarea soarelui (Tabel 1). Diferențele de expresie între genotipuri au fost considerate cele cu valori de FC≥1,5, respectiv $Log_2FC≥0,58$, acestea fiind semnificative conform testelor statistice ANOVA (Bonferroni). Modul de acțiune a genelor la hibridul F_1 în comparație cu nivelul de expresie a genelor la liniile parentale a fost clasificat conform modelului de expresie aditivă/nonaditivă (Fujimoto R, 2018).

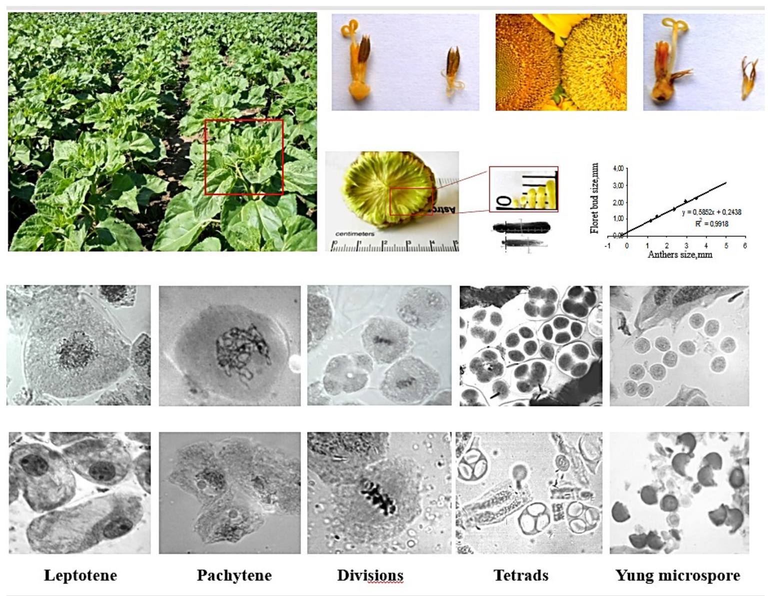


Figura 1. Fenotipul și dimensiunea butonilor florali (X64) și anterelor de floarea-soarelui asociată cu fazele de dezvoltare a microsporocitelor și polenului (X 640)

Tabelul 1. Gene potențial implicate în metabolismul ADN (reparare, recombinare), menținerea integrității ADNmt, morfogeneză mitocondriilor

(*H. annuus*)	Activitate / Funcție biochimică	
BU027250.1	(MMH-1)	ADN glicozilază/AP liază, reparare prin excizia bazelor modificate (BER)
GE512999.1	(Nth)	Endonuclează III, procese de replicare, recombinare, reparare
GE502158.1	(OGG1)	8-oxoguanină-ADN glicozilaza, procese de reparare, reparare prin excizia bazelor modificate (BER)
GE514261.1	(MYH)	Adenin glicozilaza A/G-specifică, procese de reparare, reparare prin excizia bazelor modificate (BER)
GE487746.1	(MSH1)	Reparea erorilor de împerechere (MMR), procese de menținere a stabilității genomului mitocondrial,
GE506904.1	(RECA3)	Repararea, recombinarea ADN-ului, metabolismul ADN-ului
DY925268.1	(OSB2)	Proteină (SSB), se leagă de ADN monocatenar, stabilizarea ADN în procese de replicare și reparare
GE513407.1	(WHY2)	Proteină (SSB) mitocondrială, procese de reparare ADN
BU026262.1	(MTSSB)	Proteină (SSB), procese de replicare și reparare în mitocondrii
GE502378.1	(ENDO1)	Activitate endonucleazică specifică în mecanismul de reparare a erorilor de împerechere T / G, proces catabolic ADN
GE501301.1	(MSH5)	Reparea erorilor de împerechere (MMR), recombinare meiotică reciprocă
GE501868.1	(DRP1C)	Implicare în fisiunea mitocondriilor, organizarea morfofuncţională a mitocondriilor, maturarea polenului
CD852591.1	(VDAC1)	Porină mitocondrială 1, schimb de metaboliți
BQ915164.1	(MSP1)	Hidrolază, implicare în metabolismul nucleotid trifosfaților, organizarea morfofuncţională a mitocondriilor

REZULTATE

Dinamica cantitativă a transcripților studiați în decursul a patru faze de dezvoltarea a gametofitului masculin la floarea-soarelui a prezentat un nivel ridicat de coexpresie la toate genotipurile, indeferent de condiția homozigotă sau heterozigotă (Figura 2). Totodata, variațiile în activitea de transcripție demonstrează un polimorfism de expresie diferențiat în funcție de genă și de genotip, atât în aspect cantitativ, cât și calitativ, concluzie evidențiată și prin testul *Mantel* de corelare (Figura 3). Astfel, asocierea profilelor de expresie genică la nivelul valorilor cantitative în cadrul unei faze, prezintă o corelație puternică dintre liniile consangvinizate și slabă în cazul profilului hibridului comparat cu cel al liniilor parentale. În contrast, compararea matricilor de similaritate indică diferență mare între profilele de expresie a genotipurilor studiate.

Lipsa asocierilor semnificative între profilele de expresie pot fi explicate prin următoarele diferențe cantitative și calitative între liniile consangvinizate și hibrid (Figura 4):

- **Expresia diferențiată a genelor la liniile parentale se atestă în 69,64% din cazuri, ceea ce este mai puțin decât numărul de cazuri în comparațiile dintre genitori și hibrid: *F₁ vs linia Rf* - 73,21% și *F₁ vs linia ASC* - 71,43%, dintre care în:**

− 8,93% de cazuri valorile la Drofa ASC < Drofa Rf, iar în 60,71% Drofa ASC > Drofa Rf
− 50,0 % de cazuri valorile la Drofa F₁ < ASC și 21,43% Drofa F₁ > ASC
− 28,57% de cazuri valorile la F₁ < Rf și 44,64% Drofa F₁ > Rf

Procentul mare de gene exprimate diferențiat între hibrid și liniile parentale sugerează un grad înalt de diversitate genetică dintre liniile parentale consangvinizate.

- **Numărul de cazuri în care nivelul de expresie al genelor la hibridul F₁ este similar cu cel al liniilor parentale este nesemnificativ mai mare în cazul liniei materne**: linia ASC ≈ linia Rf - 30,36%; F1≈ linia Rf - 26,79%; F1≈ linia ASC - **28,57%**.
- **Diferențe de expresie (FC≥1,5) într-o singură fază a microsporogenezei au fost constate doar la liniile parentale *ASC vs Rf* în cazul genelor MSH1 (P) și DRP1C (T).**
- **Diferențe semnificative în variația conținutului de transcripți în toate 4 faze ale microsporogenezei au fost relevate în cazul următoarelor gene candidate**:

− *Drofa ASC versus Drofa Rf* - 6 gene: **RECA3**,**OGG**, MMH1, NTH, OSB3, ENDO1
− *Drofa F_1 versus Drofa Rf* - 5 gene: **RECA3**, **OGG**, **MSP**, SSB, VDAC
− *Drofa F_1 versus Drofa* ASC - 3 gene: **RECA3**, **MSP**, MYH

- **Fazele la care majoritatea genelor a avut o expresia diferentiată sunt**:

− *Drofa ASC vs Drofa Rf* - pachiten si microspor (11 gene)
− *Drofa F₁ vs Drofa Rf* - tetrade (13 gene)
− *Drofa F₁ vs Drofa* ASC - tetrade (12 gene)

- **Transcripții MMH, RECA3 și ENDO1 au prezentat un polimorfism de expresie mai pronunțat, cu potențial de discriminare a genotipurilor homozigote față de cel heterozigot.**

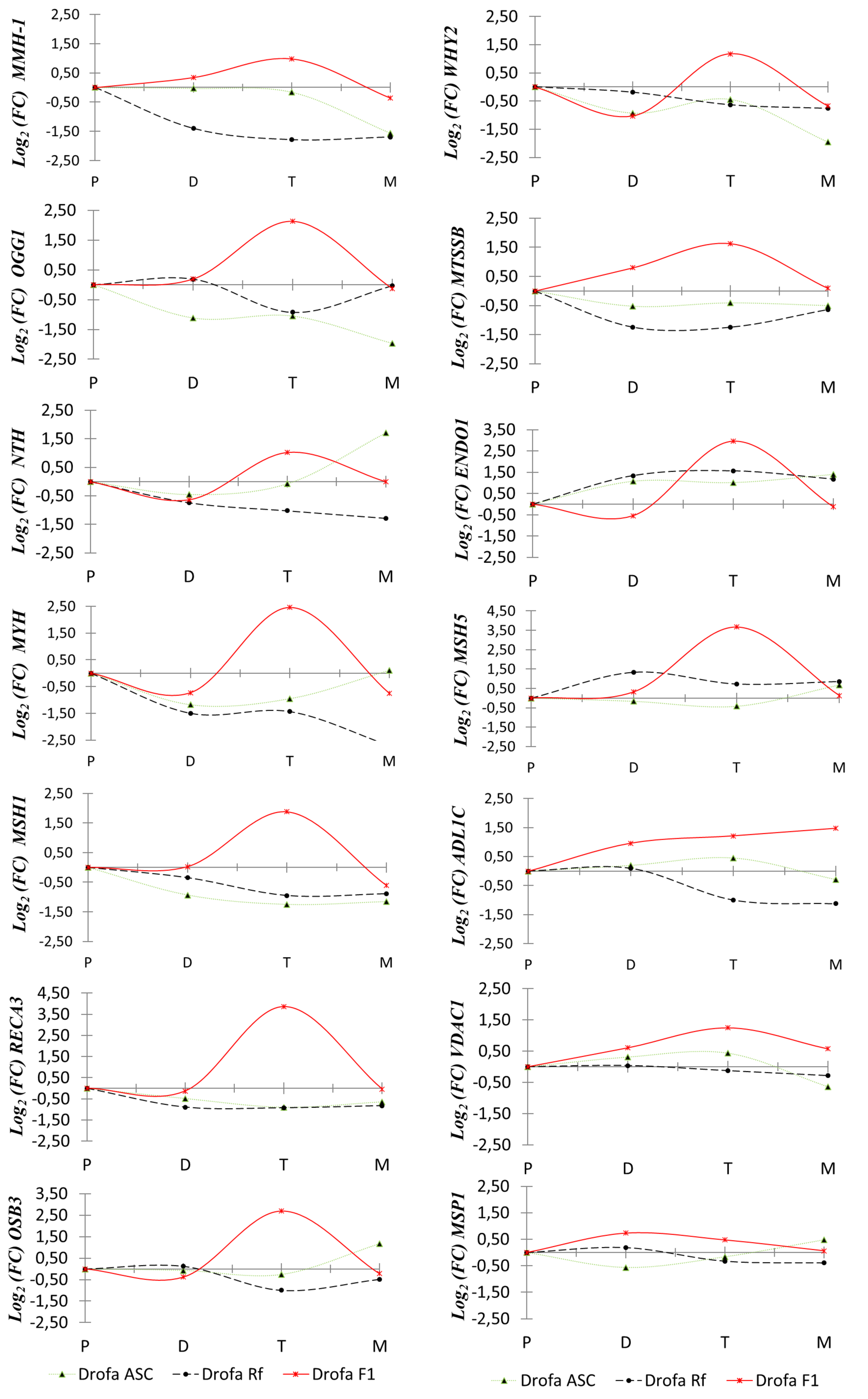


Figura 2. Profile de expresie diferențiată între genotipurile combinației hibride Drofa în microsporogeneză, pachiten (P), diviziuni (D), tetrade (T) și microspor (M)

Profile ADNc	Comparatii intre linii parentale și hibridul Drofa		
Matrici	r (ASC *vs* Rf)	r (ASC vs F1)	r (Rf vs F1)
Disimilarite	**0,85, p<0.0001**	**0,52, p<0.0001**	**0,41, p<0.0001**

Profile ADNc	Comparatii intre linii parentale și hibridul Drofa		
Matrici	r (ASC *vs* Rf)	r (ASC vs F1)	r (Rf vs F1)
Similarite	**0,17, p=0,096**	**0,06, p=0,553**	**- 0,21, p=0,038**

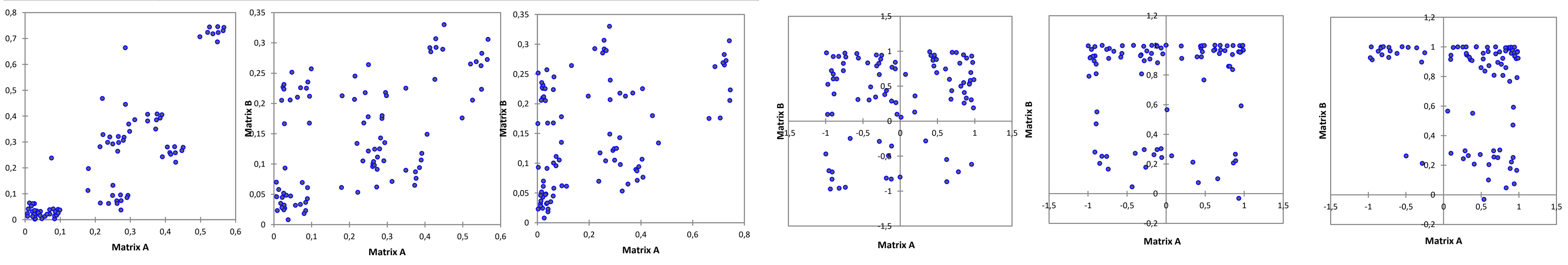
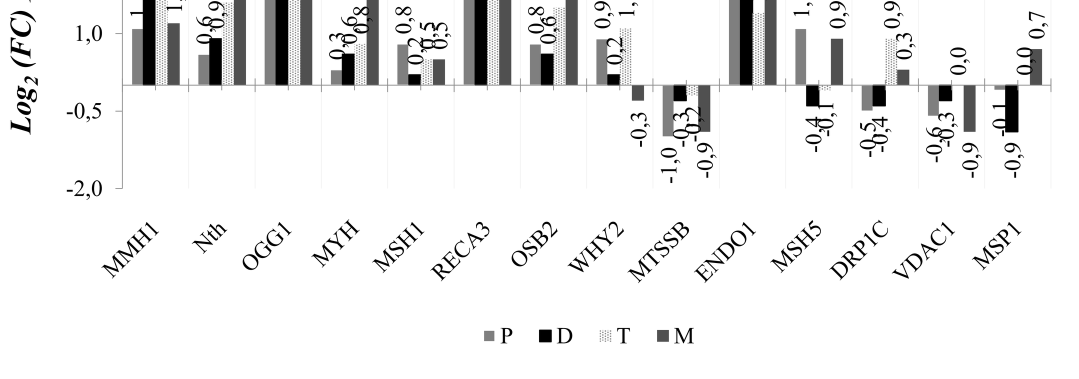


Figura 3. Comparații *Mantel* pe matici de disimilariate/similaritate

Diferentele de expresie genică între liniile parentale si dintre acestea și hibrid reflectă diferite modele de expresie a genelor mostenite de hibrid (Tabelul 2). Astfel, a fost constatat prevalența modelului de expresie neaditivă (în 82%, 46 din 56 cazuri). Cele mai multe cazuri de expresie aditivă sunt în faza de diviziuni și microspor. De menționat ca în faza de tetrade nu se constata cazuri de expresie aditivă.

Dintre cazurile de expresie neaditiva predomină cele de dominanță a parintelui inferior (28 %), în contrast cu cazurile de dominanță a parintelului superior (11%). De menționat că din cele 43% de cazuri de expresie transgresivă, supradominanță se manifestă în 21%, în special în faza de tetrade, iar 21% de subdominanța se atestă în toate fazele studiate. Modelul de expresie a genelor studiate la hibridul F_1 râmâne nemodificat în toate patru faze doar în cazul unei gene MSP (SD) și în trei faze la transcripții OGG (SUD) și VDAC (SD). În contrast, genele cu mai multe modele de expresie au fost relevate la transcripții OSB3 (DPS, A, SUD, DPI), WHY2 (DPI, SD, DPS, A) și MSH3 (DPI,SD, SUD, A). Faza de tetrade se evidențiază de celelalte faze prin lipsa modelului aditiv si prin majoritatea cazurilor de SUD. Fazele pachiten și microspor se evidențiaza prin modelul de dominanță parentala, iar diviziunile prin cazuri de SD si A.



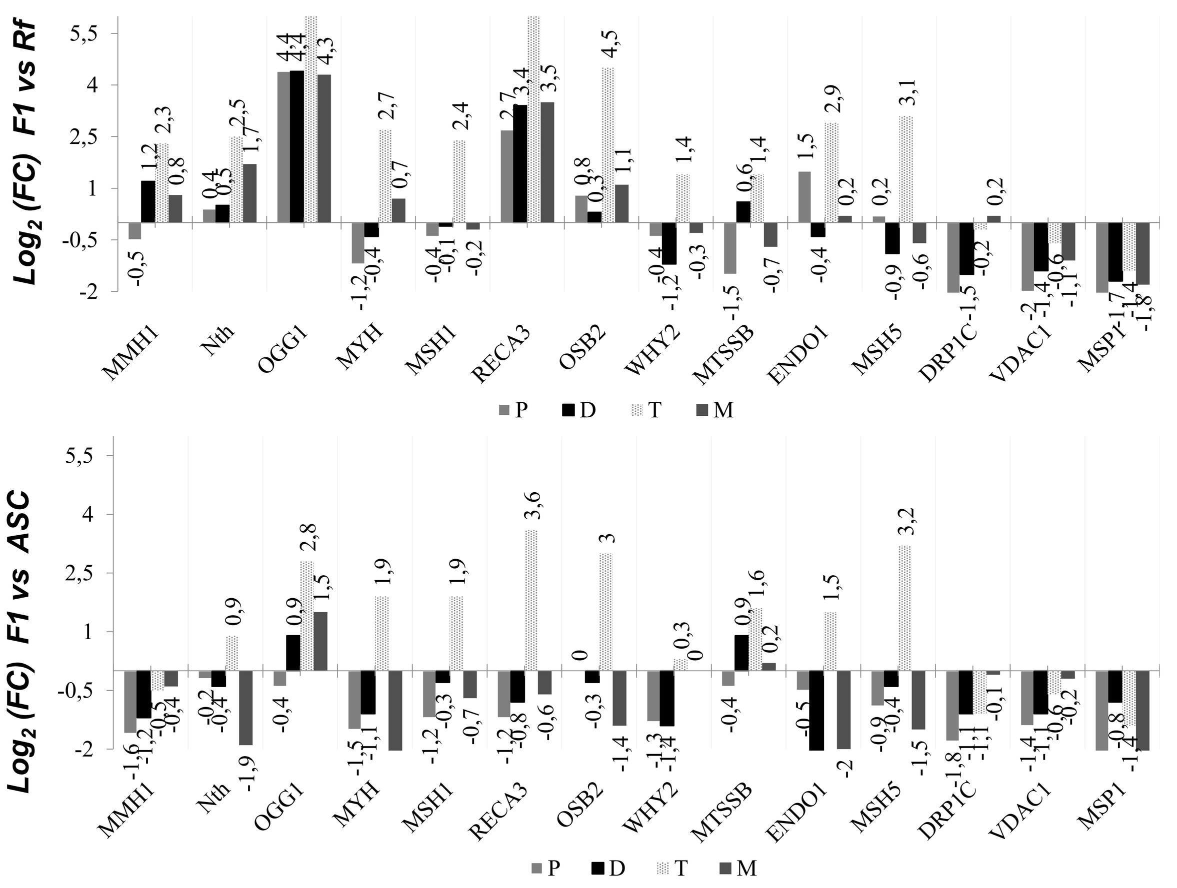


Figura 4. Comparații ale profilelor de expresie genică între genotipuri

Tabelul 2. Modul de acțiune a genelor la hibridul F_1 clasificat conform modelului de expresie aditivă/nonadditivă

Gene	Fazele microsporogenezei			
	Pachiten	Diviziuni	Tetrade	Microspor
MMH	DPI	DPI	DPS	DPS
NTH	A	A	SUD	DPI
OGG	DPS	SUD	SUD	SUD
MYH	SD	DPI	SUD	DPI
MSH1	DPI	A	SUD	A
RECA3	A	A	SUD	A
OSB3	DPS	A	SUD	DPI
WHY2	DPI	SD	DPS	A
SSB	DPI	SUD	SUD	DPI
ENDO1	DPS	DPI	SUD	DPI
MSH5	DPI	SD	SUD	DPI
DRP1C	SD	SD	DPI	A
VDAC	SD	SD	SD	DPI
MSP	SD	SD	SD	SD

Notații: SD- subdominanță ; SUD- supadominanță; DPI- dominanța parintelui inferior; DPS- dominanța parintelui superior; A - aditiv

CONCLUZUII

- Toate 14 gene candidat care codifică proteine cu funcții în procese de recombinare și reparare ADN, menținerea integrității ADN, morfogeneză și funcționalitatea mitocondriilor au prezentat profile de expresie diferențiată în microsporogeneză la liniile parentale consangvinizate și hibridul de floarea-sorelui Drofa cu performanță heterotică.
- A fost stabilită o pondere mai mare a diferitor modele de expresie nonaditivă și transgresivă la plantele hibride, cu variații specifice în funcții de faza microsporogenezei, reflectând, astfel, divergența genetică și polimorfismele de expresie genică la liniile parentale.
- Investigarea modificărilor nonaditive în activitatea de transcripție a genelor la plantele heterozigote contribuie cu informații relevante pentru o mai bună înțelegere a plasticității fenotipice în răspunsul adaptiv la varii factori de stres care afectează procesul reproductiv și astfel, potentialului de recolta al plantelor. De asemenea, datele obținute prezintă importanță in contextul identificării genelor cu rol semnificativ în manifestarea heterozisului la plantele de floare-soarelui.

Echium italicum L. (familia Boraginaceae): Caracteristici biologice și potențiale utilizări

Alexandra Roxana Sava*, Maria-Magdalena Zamfirache*, Anișoara Stratu*
***Facultatea de Biologie, Universitatea ”Alexandru Ioan Cuza” din Iași, România**

INTRODUCERE

Familia Boraginaceae cuprinde între 1600 - 1700 specii și aproximativ 90 de genuri (Chaćon și colab., 2016). Unele specii din familia Boraginaceae prezintă importanță medicinală, cosmetică, meliferă, cât și ornamentală. Importanța medicinală se datorează unor compuși biologic activi precum flavonoide, acizi fenolici, terpenoide, naftochinone, taninuri, etc.

Genul *Echium* cuprinde 68 de taxoni (POWO, 2021) și este răspândit în Europa, Asia de Vest, Asia Mică, Africa de Nord și Sud, Macaronesia (Romeiras et al., 2007; POWO, 2021); dintre care 44 de taxoni sunt endemici. În flora României este reprezentat de 3 specii (Sârbu et al., 2013).

Scopul lucrări este de a evidenția caracteristicile biologice ale speciei *Echium italicum* L, potentiale utilizări și compușii biologic activi identificați, pe baza analizei datelor raportate în literatura de specialitate.

MATERIAL ȘI METODE

Din analiza literaturii de specialitate, atât națională, cât și internațională, și a unor baze de date (ex. POWO - Plants Of the World Online) s-au centralizat date privind specia *Echium italicum*. S-a analizat literatura disponibilă, fără un prag de timp limitat.

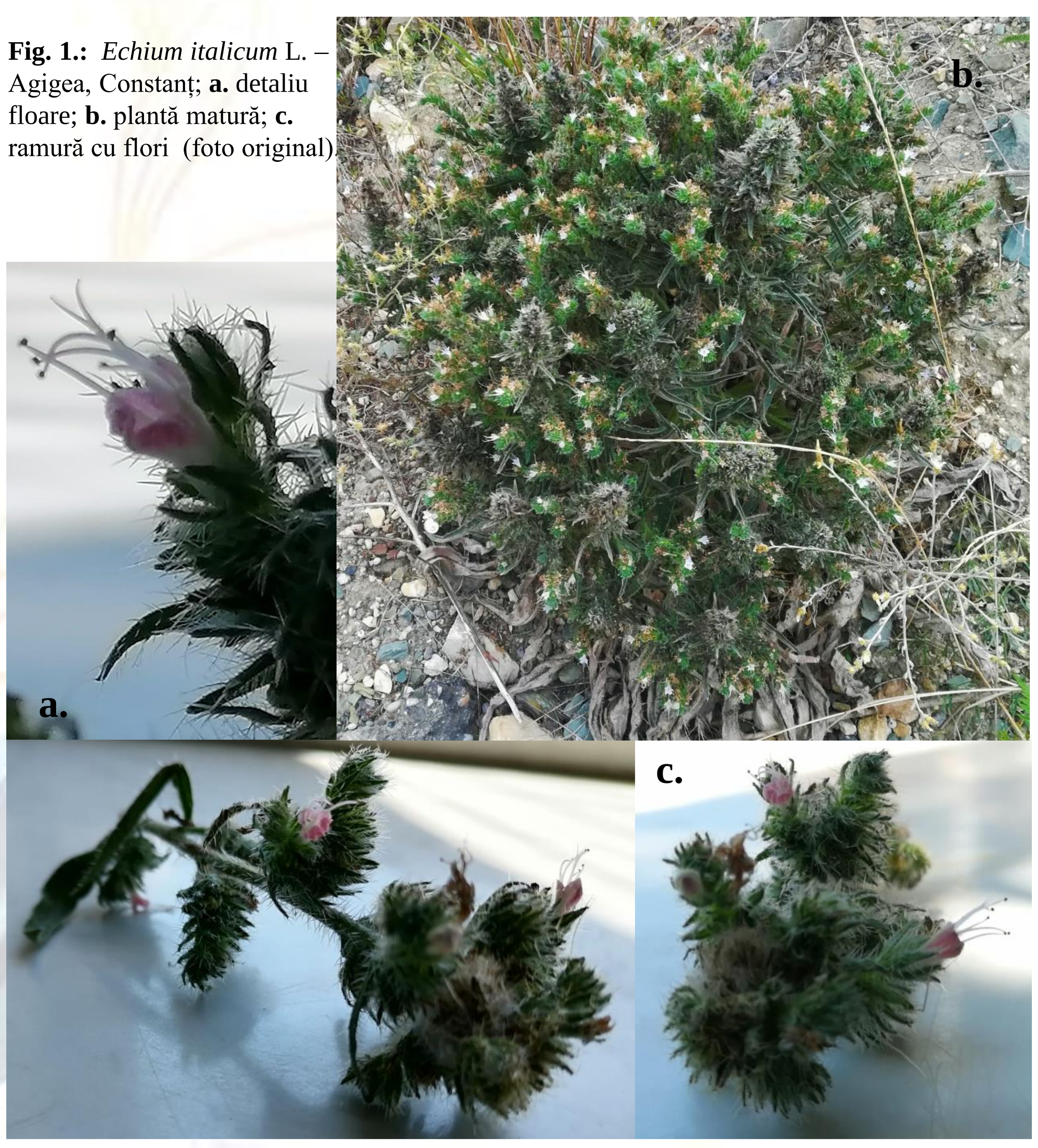
S-au realizat teste de germinație; s-a studiat creșterea în primele stadii ontogenetice.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Echium italicum syn *E. altissiumum* Jacq. (coada vacii)
Forma biologică: specie hemiterofită bianuală
Descriere:

- rădăcină groasă, pivotantă, de culoare roșu închis
- tulpina erectă, rigidă, înaltă, acoperită cu peri protectori rigizi
- frunze lanceolate
- inflorescența este de tip scopioid; florile sunt scurt pedicelate, de culoare galbenă, roz sau alb-albăstrui.
- Fructul: nuculă gălbuie, zgrăbunțoasă, slab lucioasă, lung de 2,5-3 mm.
- perioada de înflorire: iunie-august

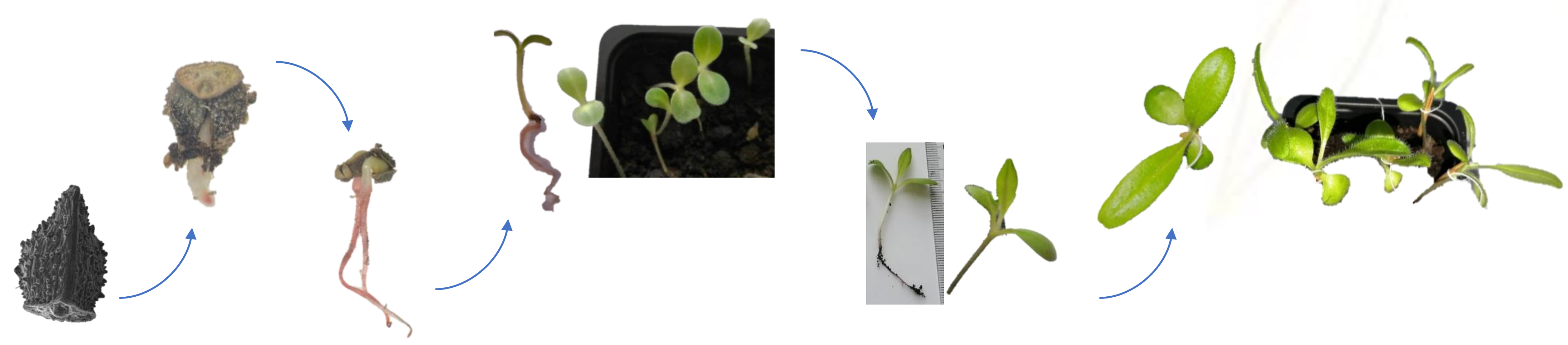
Fig. 1.: *Echium italicum* L. – Agigea, Constanț; **a.** detaliu floare; **b.** plantă matură; **c.** ramură cu flori (foto original)



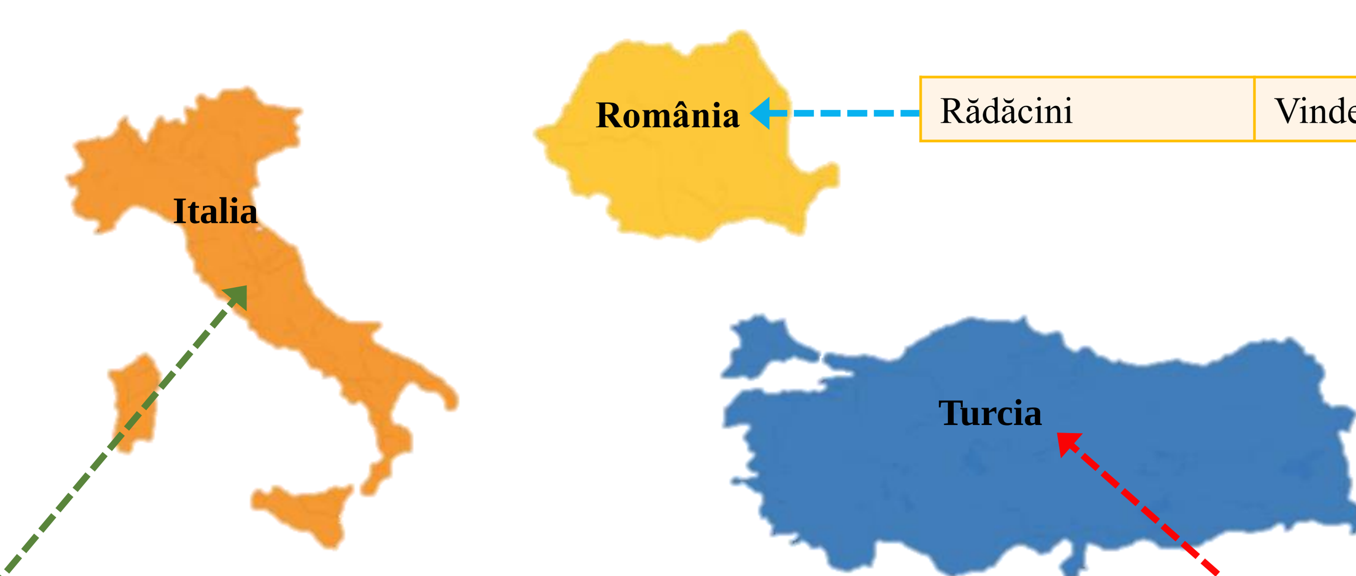
Geoelement: Eurasia de Sud
Areal de răspândire: Se întâlnește în Europa, Asia de Vest, Asia Mică
Ecologie: Specie heliofilă, subtermofilă, xero-mezofilă, neutrofilă, eurinitrofă
Habitat: În România crește sporadic în pajiști, locuri ruderale, vii, tufărișuri, coaste, locuri nisipoase, dune fixate, din zona de câmpie până în zona colinară (Grințescu, 1960; Sârbu et al., 2013).
Germinație și creștere: nuculele germinează ușor; preplantulele/plantulele prezintă peri.

Fig. 2.: Distribuția speciei *Echium italicum* L. (harta POWO 22/10/2022)

Primele etape din ciclul ontogenetic (foto original)



Utilizări tradiționale

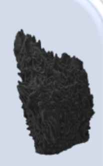


Rădăcini	Vindecarea rănilor	Grințescu, 1960

Părți aeriene	Depurativ, diaforetic, diuretic, emolient pentru vindecarea infectiilor respiratorii.	Decoct	De Natale et Pollio, 2007; Jin er al., 2020
Frunze tinere proaspete: fierte în supe			Pieroni și Giusti, 2009
Părți aeriene întregi: fierte și înăbușite și ca umplutură pentru diverse preparate; prăjite în grăsime			Pieroni, 2001

Părți aeriene	Vindecarea rănilor, diaforetică, emolient, diuretic	Tabata et al., 1994; Yeşilada et al., 1995; Sezik et al., 1997; Eruygur et al., 2012
Frunze	Dureri reumatice, vânătăi și vezicule	
Rădăcini	Vindecarea rănilor, ulcer, dureri reumatice, vezicule, tratarea vânătăilor	
Flori	Nectarul este supt.	Yeşil et al. 2019
Planta proaspătă este folosită ca hrană pentru animale.		Bağci și Keskin, 2022

Compuși biologic activi



Semințe: acizi grași nesaturați (acid linoleic, α-linolenic, steraidonic, oleic, gama linolenic), acizi grași saturați, fitosteroli (β-sitosterol, campesterol, stigmasterol), α-tocoferol (Özcan, 2013; Özcan și Süzerer, 2020)

- Importanță nutritională, terapeutică.

Partea aeriana înflorită: ulei volatil, monoterpenoide-17, (1%), sesquiterpene (3,8%), non-terpenoide (69,2%)

- Uleiul volatil are activitate antimicrobiană (Morteza-Semnani și colab. 2009). (Morteza-Semnani și colab. 2009).

Partea aeriană: flavonoide, taninuri, acizi fenolici, rozmarinic, hidrocafeic (Eruygur et al. 2012, Bošković și colab. 2017; Vukajlović și colab. 2019).

Radacină: naftochinone (shikonină și derivați-pigmenți) - epiderma rădăcinii (Albreht și colab. 2009), flavonoide (Eruygur et al. 2012).

Shikonina:

- potențial farmacologic (antiinflamator, antioxidant, antibacterian, anticancer),
- colorant în cosmetică și industria alimentară (Hosseinzadeh și colab. 2012; Yadav și colab. 2022).

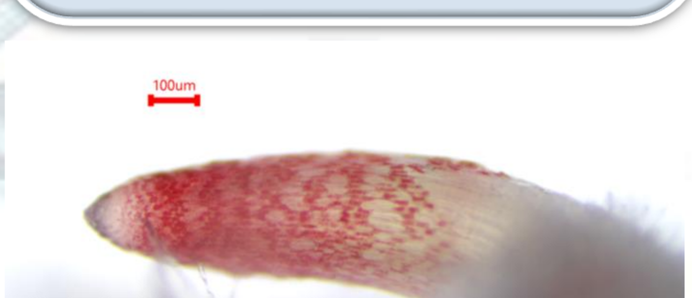


Fig. 3.: *Echium italicum* L. – prezența shikoninei la nivelul radiculei (ob. 4x).

Activități biologice /utilizări

Părți aeriene

Antioxidantă
Antimicrobială
Anxiolitică
Sedativă
(Hosseinzadeh et al., 2012; Bošković et al., 2017)
Antidiabetică (Faezizadeh și colab. 2016)

Rădăcini

Antioxidantă
Analgezică
(Eruygur et al., 2012; Jin et al., 2020).

Aliment: frunze prăjite, salate (Ozbucak et al 2006).

Naftochinone, taninuri, compuși fenolici: efecte insecticide împotriva țânțarului de febră galbenă (*Aedes aegypti*) și a moliei indiene (*Plodia interpunctella*) (Al-Snafi, 2016).Vukajlović și colab. 2019

- Sursa potențială de bioisecticide

CONCLUZII

Studiile efectuate au evidențiat următoarele: o gamă variată de compuși organici; extractele din diferite părți ale plantei și unii compușii izolati prezintă activități biologice promițătoare (analgezice, sedative, antiinflamatoare, antioxidante, antimicrobiene, vindecarea ranilor, insecticide) și proprietăți nutriționale.

Specia reprezintă un material important pentru cercetări viitoare și o potențială sursa de obținere a unor compuși biologici activi.

Sesiunea Științifică a Facultății de Biologie ”Tendințe în Biologie:la molecule la sisteme complexe” 27 - 28 octombrie 2022, Iași, România

Aspecte privind conținutul de pigmenți asimilatori la specia *Echium vulgare* L. din habitate naturale și antropizate (regiunea de NE a României)

Alexandra Roxana Sava*, Maria-Magdalena Zamfirache*, Anișoara Stratu*
***Facultatea de Biologie, Universitatea ”Alexandru Ioan Cuza” din Iași, România**

INTRODUCERE

Pigmenții asimilatori (clorofilieni și carotenoizi) au rol în procesul de fotosinteză. Conținutul de pigmenți asimilatori din plante variază funcție de mai mulți factori (specia, fenofaza, condițiile de habitat etc.).

Lucrarea aduce în atenție date privind conținutul de pigmenți asimilatori la specia Echium vulgare L. (familia Boraginaceae), provenită din 7 locații din regiunea de NE a României în perioada 2021 - 2022.

MATERIAL ȘI METODE

Materialul vegetal (frunze) a fost prelevat de la plante provenite din habitate naturale și antropizate, din 5 județe localizate în nord-estul României : județul Iași – locațiile Valea lui David, Vlădeni, Pădurea Repedea-Bârnova, Releu; județul Neamț - Borca; județul Botoșani - Băiceni; județul Suceava - Suceava; județul Bacău - Bacău.

Pigmenții asimilatori au fost extrași și dozați din frunze de la plante aflate în fenofaza de înflorire și fructificare folosind ca solvent acetonă (80%) conform metodei descrise de Lichtenthaler și Wellburn (1983).

Parametrii analizați au fost: conținutul de clorofilă a, conținutul de clorofila b, conținutul de pigmenți carotenoizi, conținutul de clorofilă a+b, raportul clorofila a/b, raportul clorofila a+b / pigmenți carotenoizi.

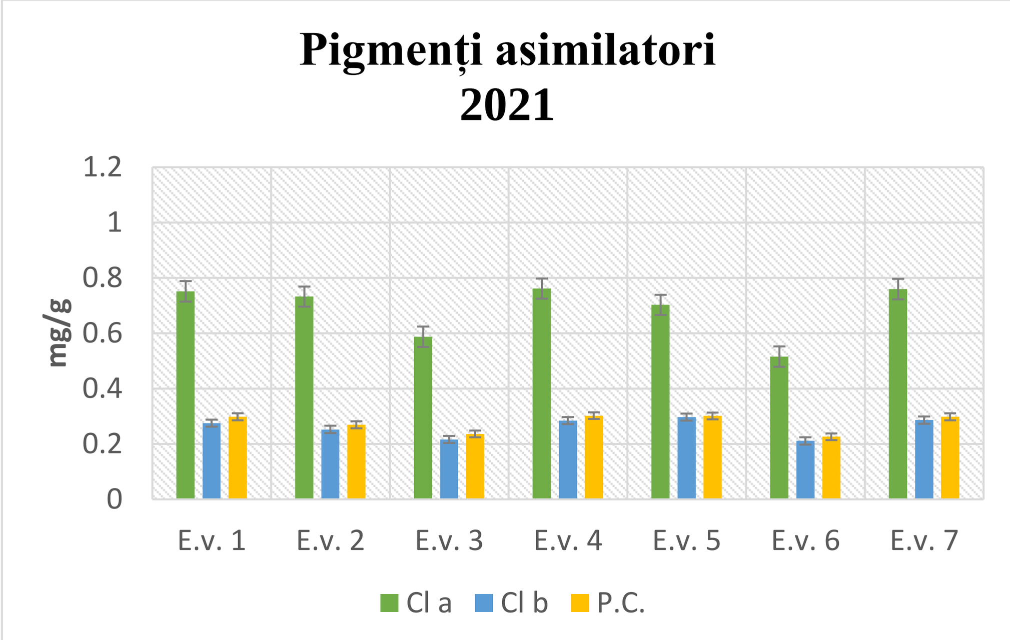
Rezultatele obținute au fost exprimate ca valori medii, în mg /g material proaspăt; au fost analizate statistic utilizând două tipuri de teste: One-way ANOVA, post-hoc Tukey HSD.

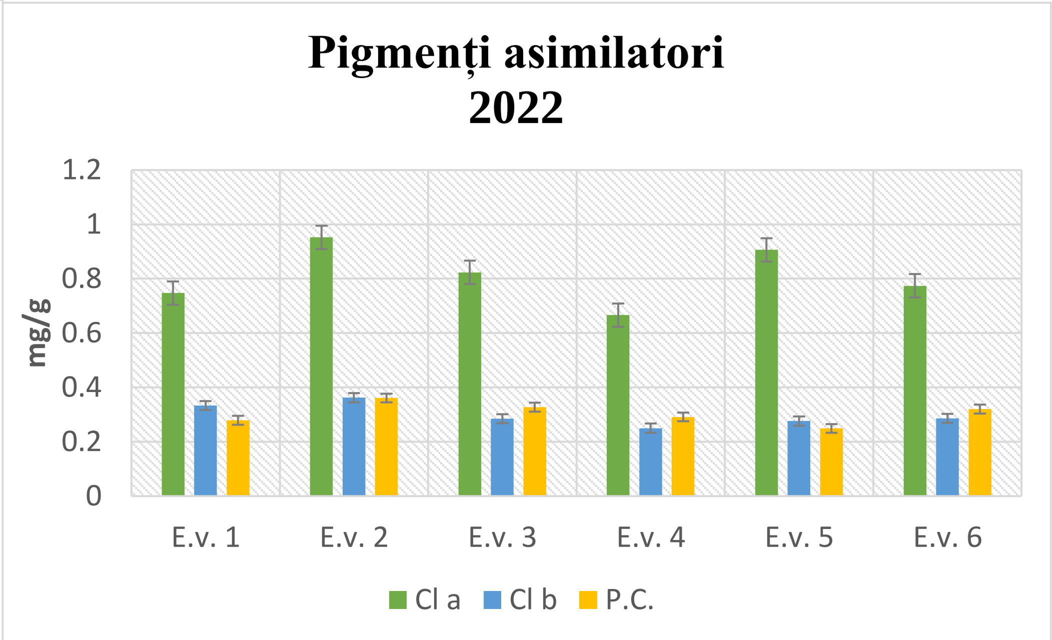
Fig. 1.: *Echium vulgare* L. - fenofaza de înflorire (foto original)

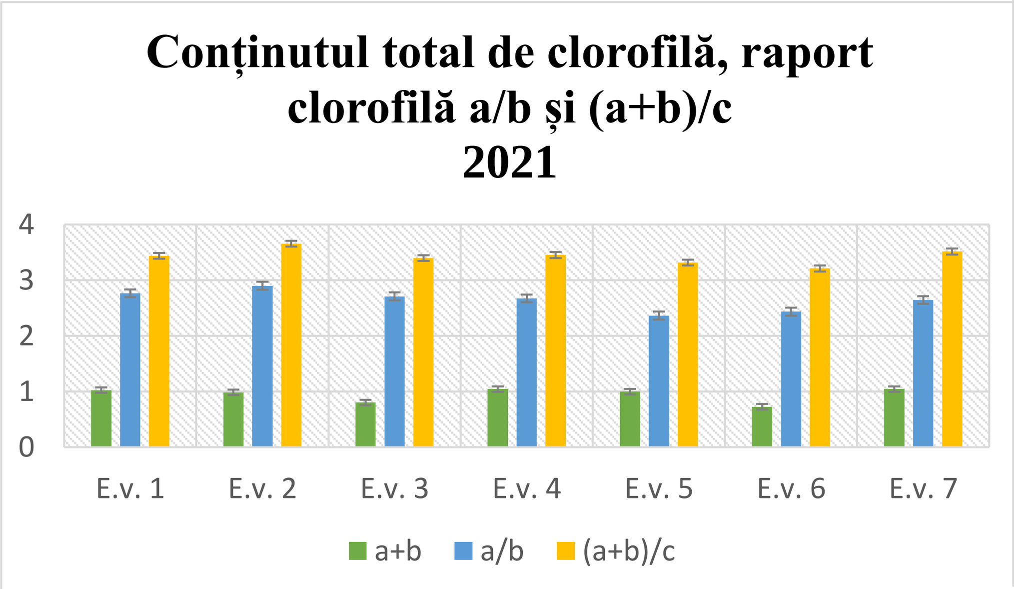
Fig. 2.: *Echium vulgare* L. – ramura cu frunze si flori (foto original)

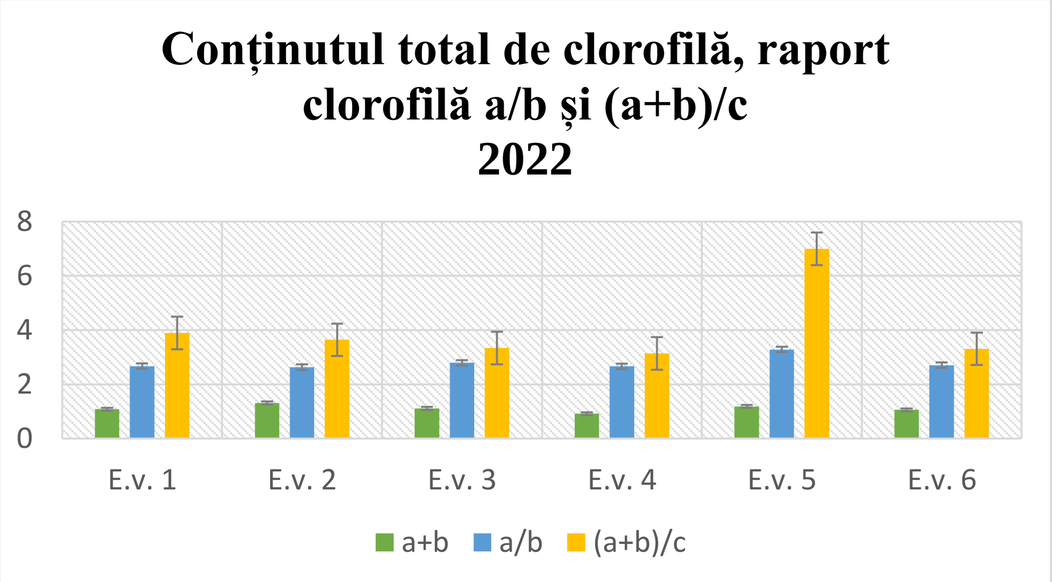
REZULTATE ȘI DISCUȚII

FENOFAZA DE ÎNFLORIRE









Tabel 1. Testul Tukey HSD pentru parametrii analizați (diferențe semnificative între valorile medii) – anul 2021 (fenofaza de înflorire)	
Clorofila a	
Valea lui David vs Suceava	p< 0.01**
Băiceni vs Suceava	p< 0.05*
Borca vs Suceava	p< 0.01**
Bacău vs Suceava	p< 0.05*
Suceava vs Bârnova -Repedea	p< 0.01**
Clorofila b	
Vlădeni vs Bacău	p< 0.05*
Vlădeni vs Bârnova -Repedea	p< 0.05*
Borca vs Suceava	p< 0.05*
Bacău vs Suceava	p< 0.05*
Suceava vs Bârnova -Repedea	p< 0.05*
Pigmenții carotenoizi	
Valea lui David vs Suceava	p< 0.05*
Borca vs Suceava	p< 0.05*
Bacău vs Suceava	p< 0.05*
Suceava vs Bârnova -Repedea	p< 0.05*
Clorofila a+b	
Valea lui David vs Suceava	p< 0.01**
Băiceni vs Suceava	p< 0.05*
Vlădeni vs Borca	p< 0.05*
Vlădeni vs Bârnova -Repedea	p< 0.05*
Borca vs Suceava	p< 0.01**
Bacău vs Suceava	p< 0.05*
Suceava vs Bârnova -Repedea	p< 0.01**
Clorofila a/b	
Băiceni vs Bacău	p< 0.05*
Clorofila a+b/c	
Băiceni vs Suceava	p< 0.05*

FENOFAZA DE FRUCTIFICARE

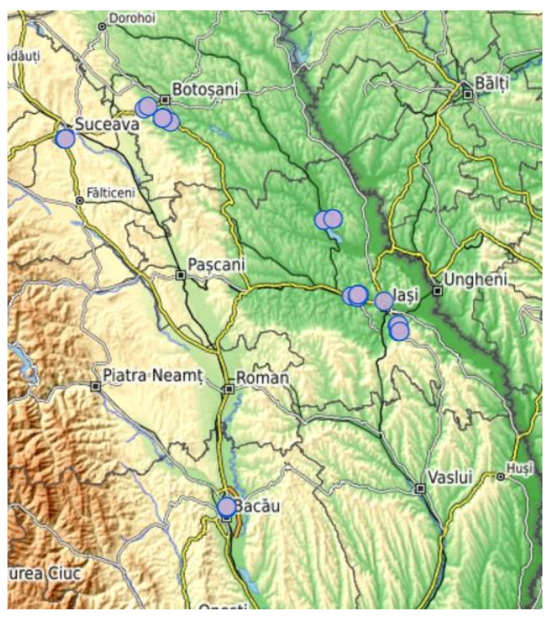
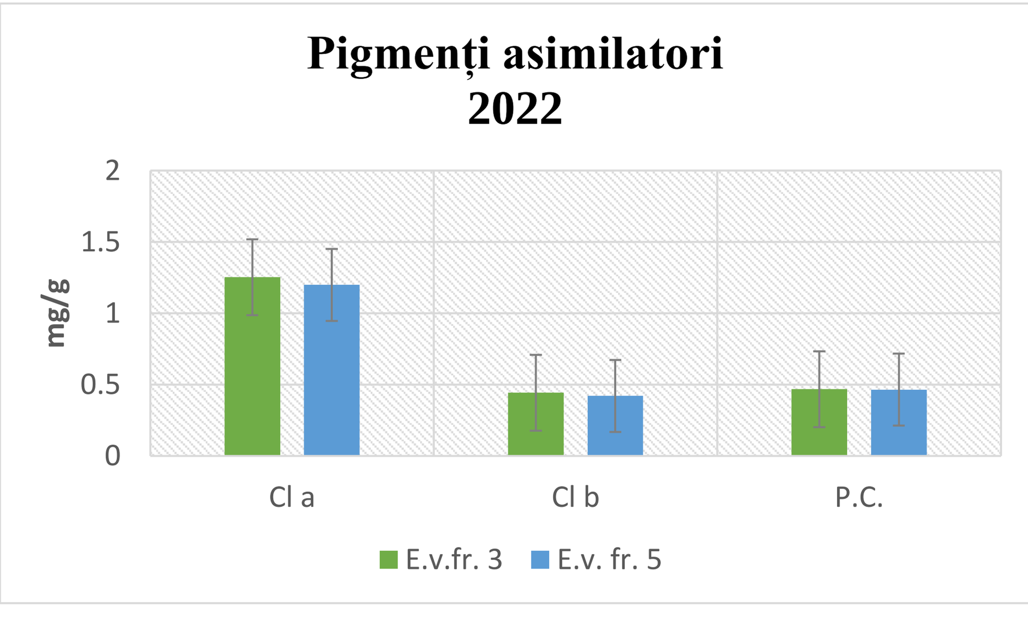
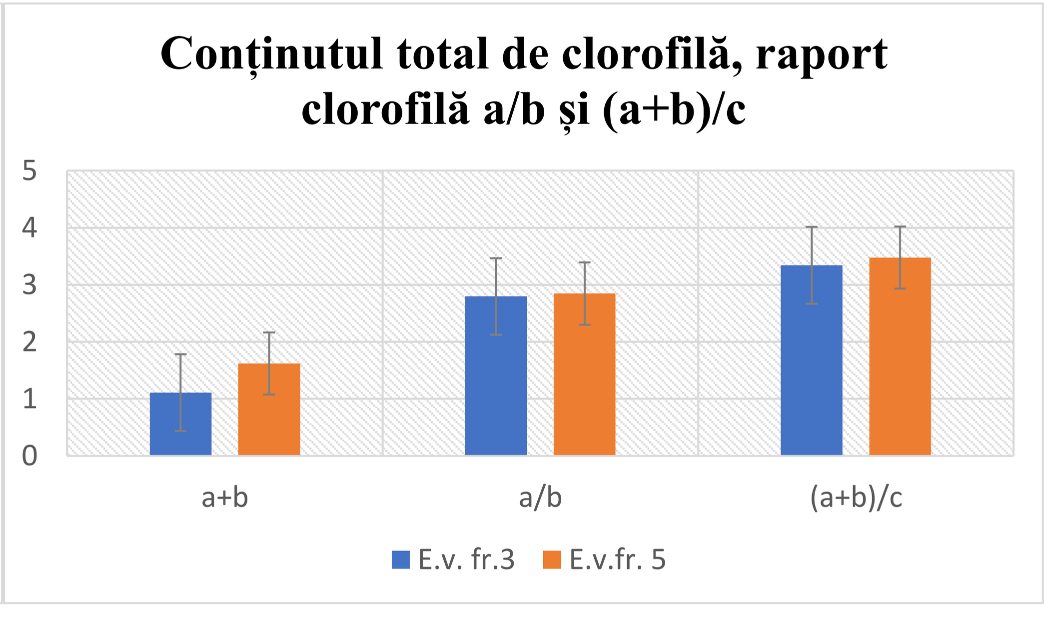


Fig. 3.: Harta cu punctele de colectare a materialului vegetal (hartă preluată de pe Observation.org)





Tabelul 2 Testul Tukey HSD pentru parametrii analizați (diferențe semnificative între valorile medii obținute în anul 2021 vs anul 2022 (fenofaza de înflorire)	
Clorofila a	
Băiceni	p< 0.05*
Suceava	p< 0.01**
Clorofila b	
Băiceni	p< 0.01**
Suceava	p< 0.05*
Pigmenții carotenoizi	
Băiceni	p< 0.01**
Clorofila a+b	
Băiceni	p< 0.01**
Suceava	p< 0.01**
Clorofila a/b	
Băiceni	p< 0.01**
Suceava	p< 0.01**
Clorofila a+b/c	
Bârnova -Repedea	p< 0.05*

Legendă

2021	2022
1 - Valea lui David, IS	1- Valea lui David, IS
2 - Băiceni, BT	2 - Băiceni, BT
3 - Vlădeni, IS	3 - Vlădeni, IS
4 - Borca, NT	4 - Borca, NT
5 - Bacău, BC	5 - Suceava, SV
6 - Suceava, SV	6 - Bârnova-Repedea, IS
7 - Bârnova-Repedea, IS	

Tabelul 3 Testul Tukey HSD pentru parametrii analizați (diferențe semnificative între valorile medii obținute în anul 2022 (fenofaza de înflorire vs fenofaza de fructificare), locația Suceava	
Clorofila a	p< 0.05*
Clorofila b	p< 0.01**
Clorofila a+b	p< 0.05*
Clorofila a/b	p< 0.05*

CONCLUZII

Pentru fenofaza de înflorire, analiza conținutului de pigmenți asimilatori pentru cei doi ani consecutivi a evidențiat valori medii mai mici în primul an, comparativ cu valorile medii din anul al doilea (cu câteva excepții).

Analiza comparativă a datelor obținute pentru fenofaza de înflorire și cea de fructificare, anul 2022 (locațiile Vlădeni și Suceava) a evidențiat valori mai mici pentru conținutul de clorofila b și de pigmenți carotenoizi în fenofaza de fructificare comparativ cu cea de înflorire.

Analiza statistică a evidențiat că diferențele statistic semnificative întregistrate au fost pentru : parametrii analizați în anul 2021-fenofaza de înflorire ; parametrii analizați în anul 2021 comparativ cu anul 2022 (fenofaza de înflorire) și pentru locația Suceava - parametrii analizați în anul 2022 (fenofaza de înflorire comparativ cu cea de fructificare).

Sesiunea Științifică a Facultății de Biologie ”Tendințe în Biologie:la molecule la sisteme complexe” 27 - 28 octombrie 2022, Iași, România

UTILIZAREA MODELĂRII ÎN CADRUL LECȚIILOR DE BIOLOGIE PENTRU ELEVII DIN ÎNVĂȚĂMÂNTUL GIMNAZIAL

Adelin STANCIU
profesor, Școala Gimnazială Junior, aparținând Universității ”Alexandru Ioan Cuza” Iași

FACULTATEA de BIOLOGIE

Sesiunea Științifică a Facultății de Biologie
Tendințe în Biologie: *de la molecule la sisteme complexe,*
Resurse Educaționale în biologie, 27 - 28 octombrie 2022, Iași

Universitatea "Alexandru Ioan Cuza" din Iași
Școala JUNIOR

1. Introducere

Predarea biologiei nu reprezintă doar transmiterea de cunoștințe, de informații, de dezvoltarea intelectului, ci și valorificarea aptitudinilor și a deprinderilor practice. Prin utilizarea modelării ca metodă didactică, a mulajelor și machețelor, substitute ale unor concepte și fenomene biologice, elevii din învățământul preuniversitar au parte de o învățare mai facilă.

2. Metoda utilizată

Modelarea este o metodă activă care folosită în lecțiile de biologie îl ajută pe profesor să solicite și să antreneze gândirea elevilor, deoarece modelele reprezintă obiectele și fenomenele biologice simplificate, reduse la aspecte esențiale, ușor de înțeles de către elevi. Modelarea se bazează pe relația de analogie dintre modelul construit și sistemul original pe care el îl reprezintă. Modelarea didactică presupune „acțiunea cu modelul”.

Figura 1. Modelare a celulei animale elev de clasa a VI-a (polistiren, hârtie, plastilină)

Figura 2. Modelarea celulei vegetale, utilizând pentru fiecare element câte un substitut comestibil

Figura 3. Modelarea celulei vegetale, din plastilină, clasa a VI-a

Figura 4. Reprezentări ale celulelor, în viziunea elevilor de clasa a VI-a *(substitute ale componentelor celulare, preluate din viața de zi cu zi—citoplasmă-aluat de pizza, nucleu-salami, cloroplaste-frunze de busuioc, reticul endoplasmatic-paste, mitocondrii-roșii cherry etc.)*

Mini-ecosisteme, modele din plastilină sau materiale reciclabile ale diferitelor tipuri de celule, ale macromoleculei de ADN, ale unor organisme sau machete ale sistemelor de organe, pot fi reprezentate în cadrul orelor de biologie pentru a dovedi aplicabilitatea noțiunilor teoretice.

Figura 5. Piramidă trofică, clasa a V-a

Figura 6. Mini-ecosistem clasa a V-a

Figura 7. Lanțuri trofice, clasa a V-a

Figura 8. Machetă a moleculei de ADN clasa a VIII-a

Figura 9. Reprezentarea din plastilină a emisferelor cerebrale, clasa a VII-a

3. Rezultate

Modelarea prin desen este foarte uzitată în lecțiile de biologie, însă din practica la clasă, se observă o îmbunătățire a atenției elevilor la ore și creșterea interesului și motivației pentru învățare, atunci când se folosesc modele obiectuale/materiale: machete, modele din plastilină, figurine, la care participă efectiv în construcția lor. S-a constatat că pentru acele lecții în care se utilizează modelarea, ca metodă didactică predominantă, noțiunile teoretice sunt asimilate în proporție de peste 80 % de către toții elevii unei clase.

Deși dedicată în special elevilor de gimnaziu, prin impunerea unor rigori în construcție, modelele pot fi utilizate chiar și în cazul liceenilor.

4. Concluzii

Modelarea, deși o metodă didactică considerată clasică, dacă este folosită la un nivel înalt creativ, poate ajuta elevii din învățământul gimnazial, dar și liceal să-și consolideze noțiunile teoretice, iar profesorul de biologie să motiveze învățarea elevilor.

Pentru mai multe fotografii, scanează codul QR.

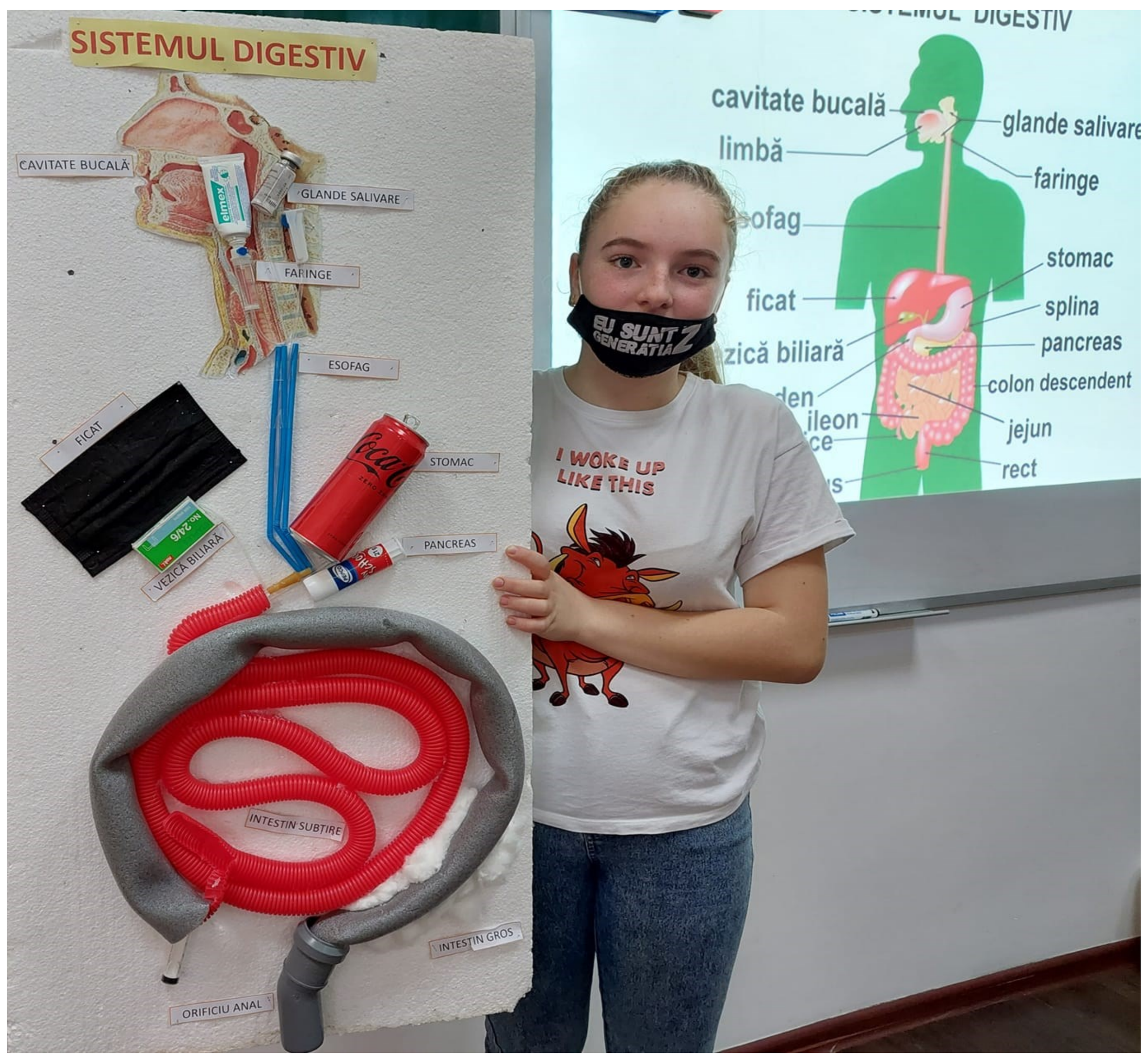


Figura 10. Machetă a sistemului digestiv, din obiecte de bricolaj și reciclabile, clasa a VI-a

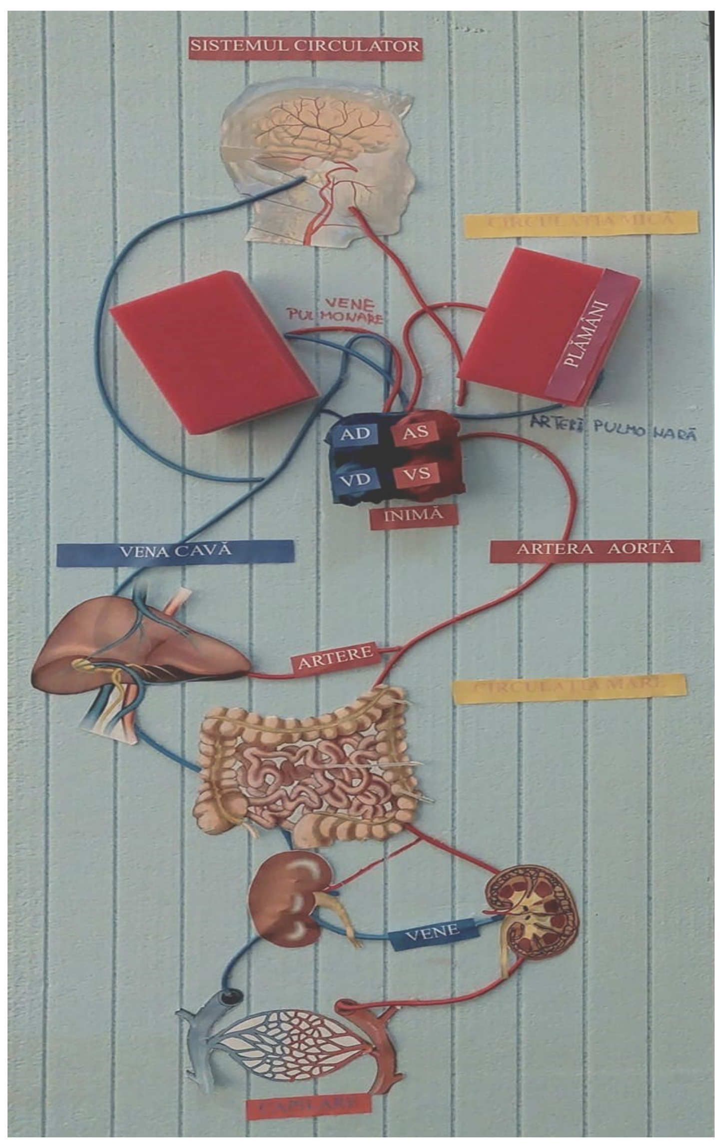


Figura 11. Machetă a sistemului circulator, clasa a VI-a

Zooplankton Community Dynamics of Two Restored Wetlands from Danube Delta Biosphere Reserve, Romania

SULIMAN Iasemin[1,2*], TUDOR Iuliana - Mihaela[1], IBRAM Orhan[1,3], BURADA Adrian[1], DESPINA Cristina[1], SECELEANU-ODOR Daniela[1], TOFAN Lucica [2]

[1]"Danube Delta" National Institute for Research and Development, 165 Babadag Street, Tulcea
[2] "Ovidius" University of Constanța, Doctoral School of Applied Sciences, 124 Mamaia Avenue, Constanța
[3] "Dunărea de Jos" University of Galati, Faculty of Science and Environment, 47 Domnească Street, Galați

1.INTRODUCTION

- Over time, a large part of the Danube Delta including the Carasuhat and Zaghen wetlands (Fig. 1, 2.) has been impacted by human activity.
- Resource use through damming large areas for agriculture, fish farming or forestry, have led to important changes in the natural ecosystems of the Danube Delta affecting the balance of environmental conditions and threatening the development and survival of the aquatic species.
- Existing policies have identified these ponds as priority habitatsand have been including them in restoration projects, aimed at protection and conservation
- Zooplankton is one of the communities that benefits from these newly generated conditions. The occurrence and distribution of plankton fauna depend on a number of factors such as habitat physicochemical properties, and biotic factors.
- The current increasing of the anthropic activities in the Danube Delta may represent some threat to the quality of freshwater bodies and diversity of biological communities.

Fig.1.Carasuhat restoration area

Fig.2. Zaghen restoration area

2. METHODS

Samples were collected in March, July, October 2021 (Figure 1 and 2)
Environmental parameters were measured in situ with the YSI EXO2 multiparameter.
Nutrients concentrations were determined using a UV-VIS Lambda 650 Perkin Elmer spectrophotometer
Zooplankton was collected by filtering 30 L water through a 55 μ plankton net and counted using a 1 ml Sedgewick – Rafter chamber, under a Zeiss microscope.
Numerical density, diversity, evenness, richness and *Brachionus/Trichocerca* (QB/T) indices, were calculated.

Fig.3. Carasuhat sampling points

Fig.4. Zaghen sampling points

3. RESULTS

Zooplankton assemblages

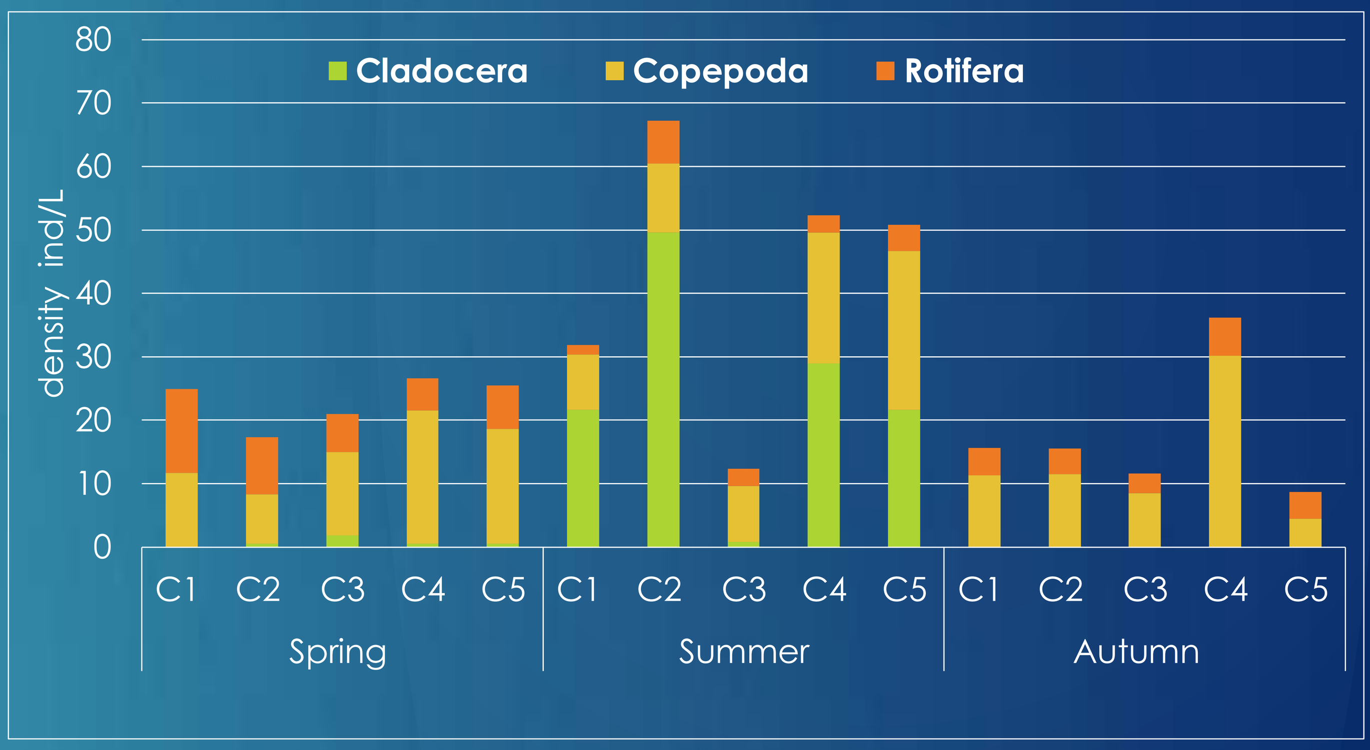
The two restoration areas had different restoration histories and environments, and the zooplankton showed obviously different community composition.
We observed a relatively large number of zooplankton taxa in the studied ecosystems, 46 species in Carasuhat and 29 species in Zaghen.
Cladocerans (*Diaphanosoma brachyurum*, *Chydorus sphaericus*, *Moina brachiata*, and *Bosmina longirostris*), copepods (*Megacyclops viridis, Macrocyclops albidus)*, and some pelagic rotifers *Keratella sp., Pompholyx sulcata, Polyarthra vulgaris, Filinia longiseta, Brachionus sp.,* were found the most frequent species.
Most of these species have great ecological adaptability to a wide variety of environmental conditions, and the capacity to be resistant to organic pollution, common in all types of aquatic ecosystems of the Danube Delta, indicating high trophic conditions, which confirms the eutrophic character of these water bodies.

Water quality

In accordance with Order 161/2006, which approved the standards regarding the classification of surface water quality to determine the ecological status of waterbodies, compliant with WFD 2000, nutrients concentrations, were frequently below the imposed limits.
Ammonium, shows the existence of a "high" ecological status. Nitrates indicate "high" and "good" ecological conditions. Values of total N and nitrites have indicated in general "good" and "moderate" ecological status. Phosphates and total P, concentration never exceeded the limit for " good " ecological status.
The content of chlorophyll-a classified water quality in Carasuhat, in class I "high" and class II "good" quality. The results obtained for chlorophyll "a", for Zaghen ranked water in class II "good quality" and class III "moderate" quality".

Brachionus/Trichocerca Quotient

In order to determine the trophic level the **QB/T** index was applied. The QB/T index shows the rate of the number of Brachionus to the number of Trichocerca. The Q index is evaluated in three groups for the lake's trophic state, that Q=1 means oligotrophy, Q = 1.0-2.0 means mesotrophy, and Q>2 means eutrophy.
We found that the QB/T value was over 2.0 for both permanent and temporary habitat types, and thus the waterbodies we sampled were deemed as eutrophic.



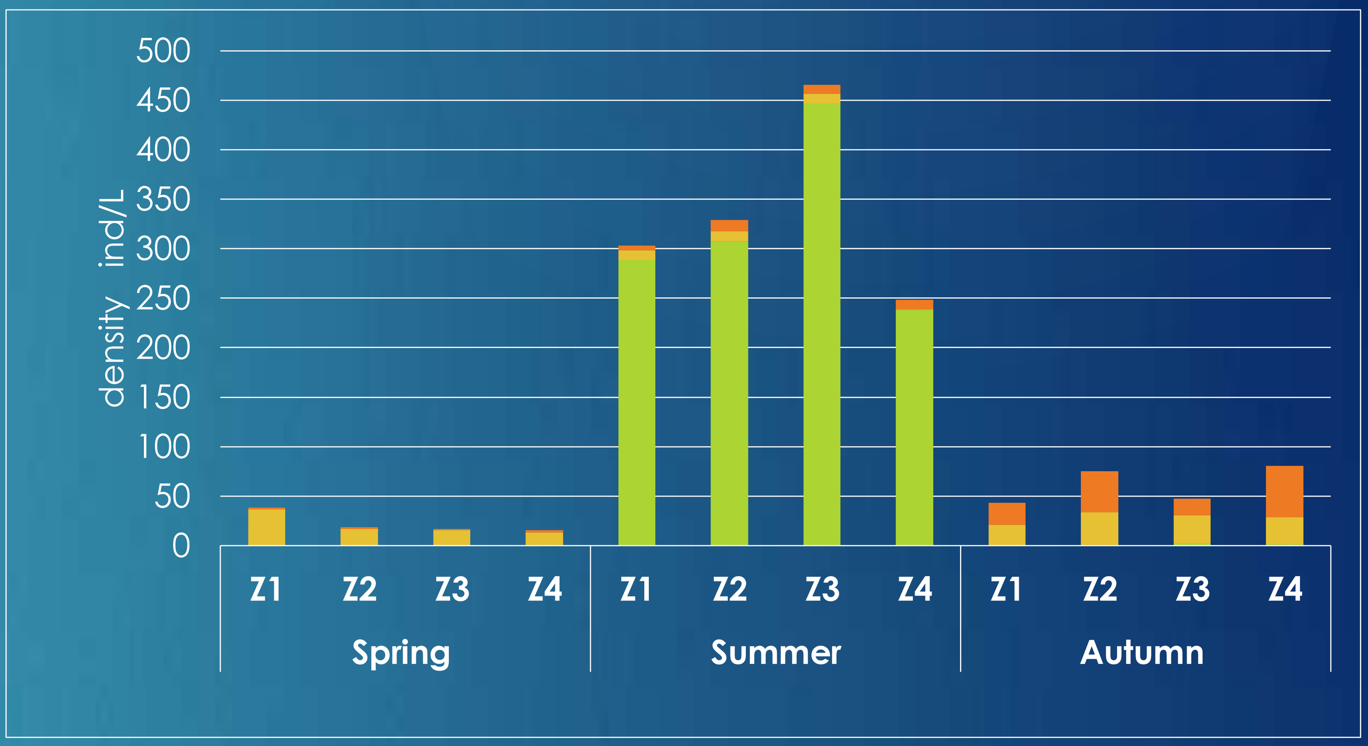


Fig 5. The mean densities of the principal zooplankton taxonomic group dynamics in Carasuhat and Zaghen wetlands, 2021

Table 1. Temporal variation of zooplankton species richness, Shannon and Evenness diversity-index recorded in studied ecosystems.

CARASUHAT	Spring	Summer	Autumn
Taxon number	**34**	23	12
Shannon-Wiener index (H')	**3.384**	2.953	2.39
Evenness	0.8673	0.8333	**0.9093**
ZAGHEN	**Spring**	**Summer**	**Autumn**
Taxon number	**18**	14	8
Shannon-Wiener index (H')	**2.733**	2.472	1.973
Evenness	0.8546	0.8465	**0.899**

Brachionus diversicornis

Trichocerca elongata

4. CONCLUSIONS

The results of this study indicated highest species richness and ecological conditions in Carasuhat wetland compared to Zaghen. Our study enhanced to the knowledge of the water quality and zooplankton communities of the Danube Delta Biosphere Reserve ecological restoration areas, further research will be continued to monitor impacts on these aquatic ecosystems.

AKNOWLEDGEMENTS
This work was supported by the Danube Delta Nucleus Programme PN 19 12 01 02, 2019-2022, funded by the Ministry of Research, Innovation and Digitization, and the PROINVENT project in the framework of Human Resources Development Operational Programme 2014-2020, financed from the European Social Fund under the contract number 62487/03.06.2022 POCU 993/6/13/– Cod SMIS: 153299.

CLONAL MICROPROPAGATION OF *LYTHRUM SALICARIA* L.

Smaranda Vântu
„Al. I. Cuza" University, Faculty of Biology, B-DUL CAROL I, 20 A, 700505 IASI, ROMANIA, s_vantu@yahoo.com

INTRODUCTION

The cultivation of *Lythrum salicaria* L. through unconventional techniques offers many opportunities to improve, perpetuate and conserve an important plant, not only for pharmaceutical value, but also used to detect pollution by heavy metals (Nicholls et Mal, 2003, Sun et al, 2013).

The major phythochemicals of *Lythrum salicaria* L. include tannins, flavones and anthocyanins with a wide range of pharmacological activities (Humadi et Istudor, 2009).

The regenerative potential of meristematic explants from *Lythrum salicaria* L was evaluated for the establishment of a clonal propagation protocol (Turker et al, 2009, Betül et al, 2018).

Photo 1- Shoot tip culture

Photo 2 ,3 -Early stages of caulogenesis

METHODS

Plant regeneration has been achieved from meristem cultures, using shoot tips, taken from seedlings germinated in aseptic conditions.. The procedure involved shoot tip cultures, followed by shoot multiplication, rooting and finally establishment of plantlets in soil.

The cultures were established on 6 variants of Murashige-Skoog basal medium, using two types of cytokinins: benzylaminopurine (1 mg/l, 0,5 mg/l, 0,1 mg/l) and kinetine (1 mg/l, 0,5 mg/l, 0,1 mg/l).The samples were kept in growth chamber at 24^{0} C, under a 16 h light and 8 h dark photoperiod.

The *Lythrum salicaria* L seeds were chemically sterilized, using a solution of 3% Na hypochlorite. Treatment duration was 10 minutes, followed by washing repeatedly with sterile distilled water.

Surface sterilized seeds were aseptically inoculated on MS basal medium and incubated at 25±2 °C under 16h light and 8h dark photoperiod for raising the plantlets. The cultures of *Lythrum salicaria* L were initiated on shoot tips explants taken from in vitro grown 15 days old plantlets.

Photo 4, 5- Shoots development

RESULTS

Table 1- Morphogenetical reactions of *Lythrum salicaria* L, cultivated „in vitro"

Variants	BAP mg/l	K mg/l	Morphogenetical reaction
1	1		caulogenesis
2	0,5		-
3	0,1		-
4		1	callus induction
5		0,5	-
6		0,1	-
7	-	-	roots development

BAP – benzylaminopurine , **K** – kinetine

Photo 6- In vitro regenerated plants

Photo 7 – Acclimatisation of regenerated plant

Photo 8- Calus cultures

CONCLUSIONS

The evaluation of explant reactivity was the number of developed shoots encountered on initial explant.

Benzylaminopurine, in a concentration of 1 mg/l was optimum for shoots multiplication.

The regeneration of whole plants was obtained in two steps: the shoots were excised and transferred to fresh medium and then rooting of these shoots was achieved on the same medium without growth regulators.

The whole plants "reconstruction" protocol lasted for 10 weeks.

For acclimatization „ ex vitro" plants showed vigorous root system were transferred to pots with sterile soil.

Torymus sinensis și speciile indigene apropiate

Viciriuc Ionela-Mădălina[1], Fusu Lucian[2],Borowiec Nicolas[3]

[1]Laborator interdisciplinar de cercetare a mediul marin și a atmosferei terestre marine, Universitatea Alexandru. I. Cuza din Iasi, Stația Biologică Marină Prof. dr. Ioan Borcea, Constanța, Romania; [2]Universitatea Alexandru. I. Cuza din Iasi, Facultatea de Biologie, Grupul de cercetare în diversitatea si filogenia nevertebratelor, Iași, Romania;

[3]Institut Sophia Agrobiotech, UMR INRAE-CNRS-Universita Côte d'Azur, Sophia Antipolis, France

Introducere

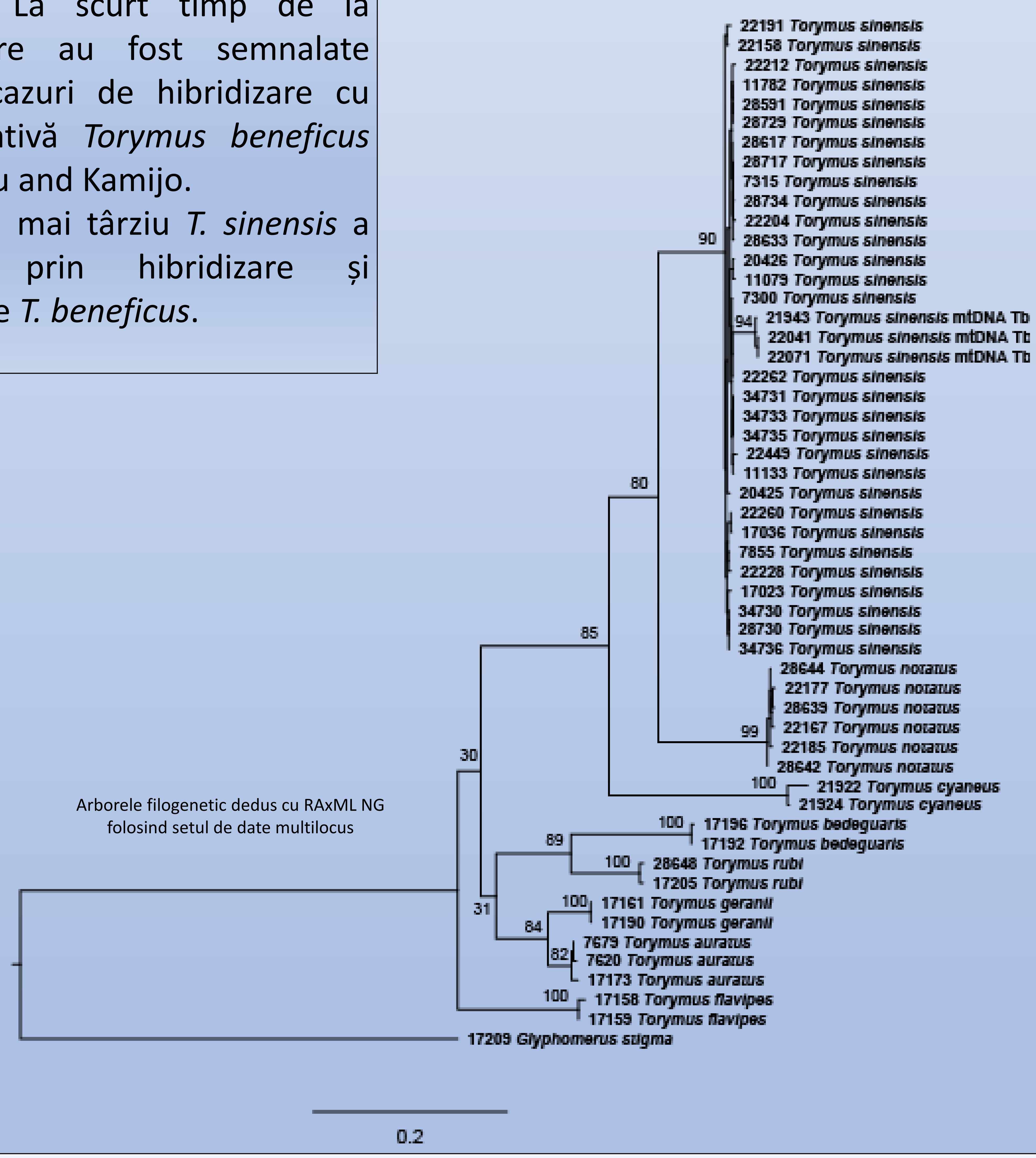
Torymus sinensis Kamijo, a fost folosit în ultimii 30 de ani pentru a controla populația cinipidului galigen al castanului comestibil *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu.

A fost introdus pentru prima dată în Japonia (1975) cu un control vizibil a populaţiei dăunătorului după 8-10 ani de la introducerea acestuia. La scurt timp de la introducere au fost semnalate primele cazuri de hibridizare cu specia nativă *Torymus beneficus* Yasumatsu and Kamijo.

Cațiva ani mai târziu *T. sinensis* a eliminat prin hibridizare și introgresie *T. beneficus*.

Metode

Specimenele utilizate au provenit din mai multe țări europene. În vederea realizării studiului au fost amplificați și analizați mai mulți markeri moleculari: (i) gena mitocondrială oxidaza citocromului c, subunitatea I (COI); (ii) gena nucleară wingless (Wg), (iii) gena nucleară Enolaza (Eno) incluzând introni și exoni; (iv) distanțierul ribozomal intern transcris 2 (ITS2).

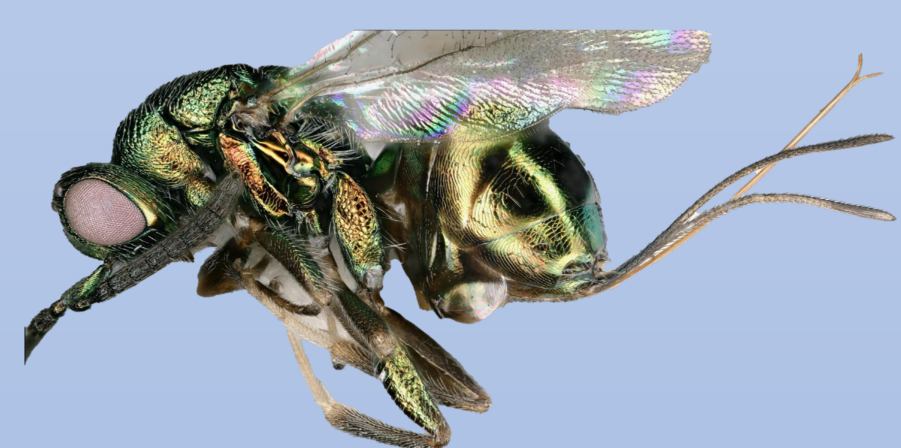


Arborele filogenetic dedus cu RAxML NG folosind setul de date multilocus

Discuții

Datele filogenetice arată că numai *T. notatus*, care poate parazita și *D. kuriphilus*, poate avea potențial de hibridizare cu agentul de control biologic *T. sinensis*. Cele două specii fac parte din același grup de specii (grupul *cyaneus*) și sunt cele mai apropiate genetic pe baza tuturor celor trei markeri nucleari: Enolaza (1,5%), Wingless (2%) și ITS2 (14,1%), dar mai puțin pe markerul mitocondrial COI (11,5%).

Femelă de *Torymus sinensis*



Femelă de *Torymus* notatus

Rezultate

Arborii filogenetici reconstruiți pentru fiecare marker au fost suficient de congruenți pentru a realiza o filogenie multi-locus. După concatenare, au fost testate numeroase modele evolutive și diverse scheme de partiționare.

Analizele filogenetice bazate pe verosimilitate maximă (ML) separă fără ambiguitate (bootstrap > 90%) majoritatea speciilor, cu excepţia *T. auratus* cu bootstrap de 82%, celelalte specii europene de *Torymus* precum și complexul *„beneficus-sinensis*", oferind o bază sigură pentru delimitarea speciilor, caracterizarea morfologică și identificarea caracterelor diagnostice.

Filogenia rezultată cu acestă metodă confirmă faptul că *T. notatus* și, într-o măsură mai mică, *T. cyaneus* sunt speciile cele mai apropiate filogenetic de complexul *„beneficus-sinensis*".

Mulțumirile sunt acordate sprijinului de infrastructură din Programul Operațional Competitivitate 2014-2020, Axa 1, în cadrul POC/448/1/1 Proiecte de infrastructură de cercetare pentru instituțiile publice de cercetare-dezvoltare/Secțiunile F 2018, prin Centrul de Cercetare cu Tehnici Integrate de Investigare a Aerosolilor Atmosferici în Proiect România (RECENT AIR), în baza contractului de grant MySMIS nr. 127324.

Expression of two genes involved in terpene biosynthesis in four *Lavandula angustifolia* cultivars

GABRIELA-ALINA ȘTEFAN [1, 2*], MARIA-MAGDALENA ZAMFIRACHE[1], LUCIAN DRAGOȘ GORGAN[1]

1 "Alexandru Ioan Cuza" University of Iași, Faculty of Biology, Bd. Carol I, No. 20A, 700505, Iași, Romania,

2 "Ștefan cel Mare" University of Suceava, Faculty of Medicine and Biological Sciences, 13 University Street, 720229, Suceava, Romania

**stefangabi993@gmail.com*

INTRODUCTION

The study aims to characterize the **1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase (DXS)** which catalyzes the first step of the plastidial methylerythritol phosphate (MEP) pathway for the production of most essential oil constituents and **3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase (HMGR)**, a key enzyme in the mevalonate (MVA) pathway in the cytoplasm by expression as genes involved in terpene biosynthesis, in four different lavender cultivars (`**Provence Blue**`, `**Sevtopolis**`, `**Vera**` and `**Codreanca**`) of the ***Lavandula angustifolia*** species by **quantitative Real-Time PCR.**

MATERIALS AND METHODS

The experiment was carried out in a protected (unheated greenhouse) and unprotected (field) space.

To achieve the objectives proposed in this experiment, four varieties of the species *Lavandula angustifolia* Mill were used. and four experimental variants, respectively: watered with H_2O (v1); watered with standard Hoagland nutrient solution (v2); watered with Hoagland nutrient solution containing a double amount of K (v3); watered with Hoagland nutrient solution containing a double amount of P (v4).

The plant material was collected, in the flowering period, in June 2019.

PLANT MATERIAL → RNA EXTRACTION → RT-PCR

RESULTS

The HMGR gene was the most strongly expressed, the highest values being observed in flowers in the plants of the Sevtopolis variety watered with Hoagland nutrient solution with the addition of K (v3).

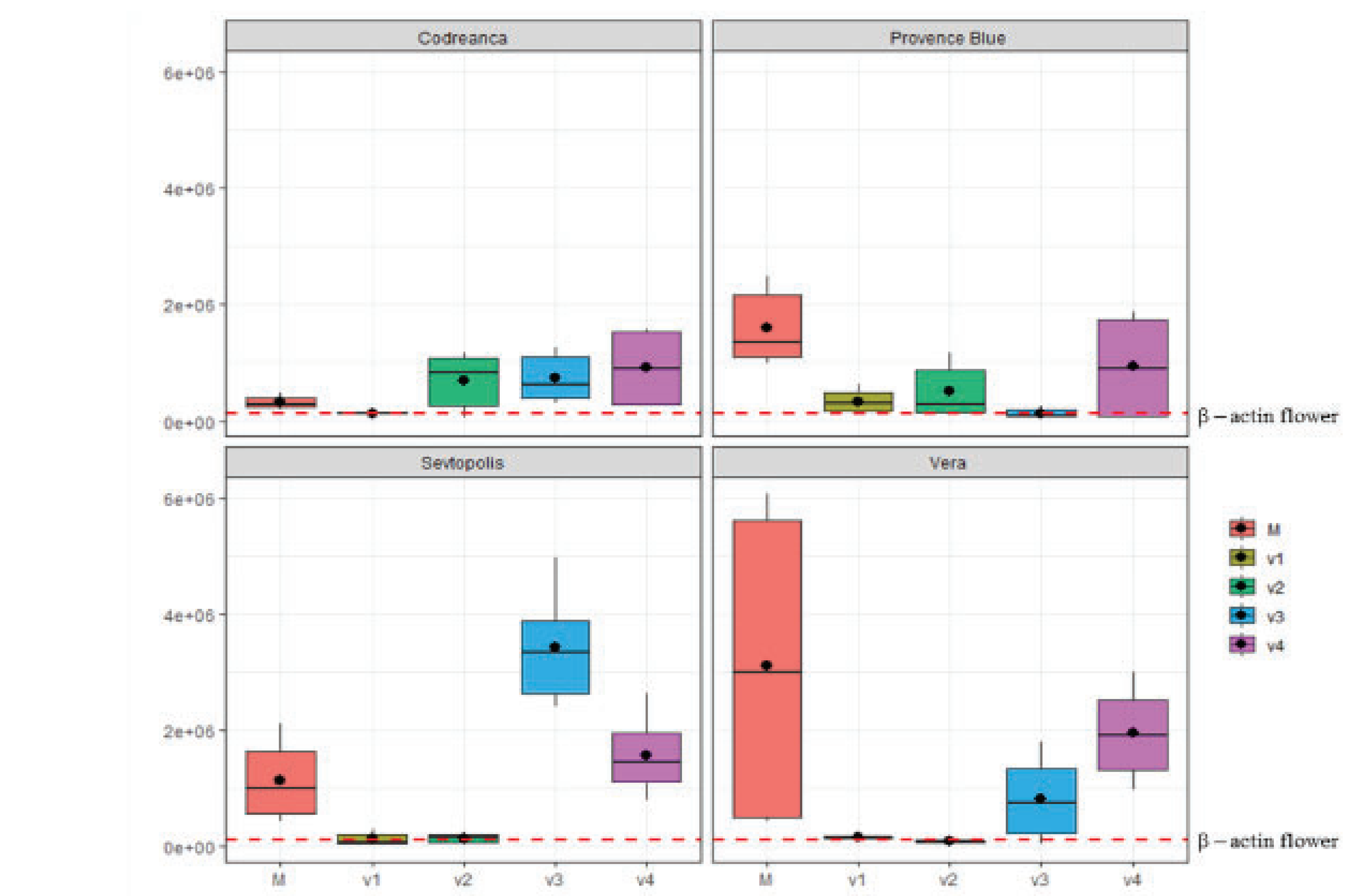
Increases in leaf gene expression were observed after watering the plants with Hoagland nutrient solutions with the addition of K and P, respectively (v3 and v4) in all studied varieties.

In the case of the DXS gene, an increase in leaf expression was found in plants watered with Hoagland nutrient solution with the addition of K (v3) of Codreanca and Provence Blue varieties and in plants supplemented with Hoagland nutrient solution with the addition of P (v4) of Provence Blue and Vera varieties.

The DXS gene showed a lower expression, compared to the HMGR gene, in all varieties and experimental variants, both in flowers and leaves.

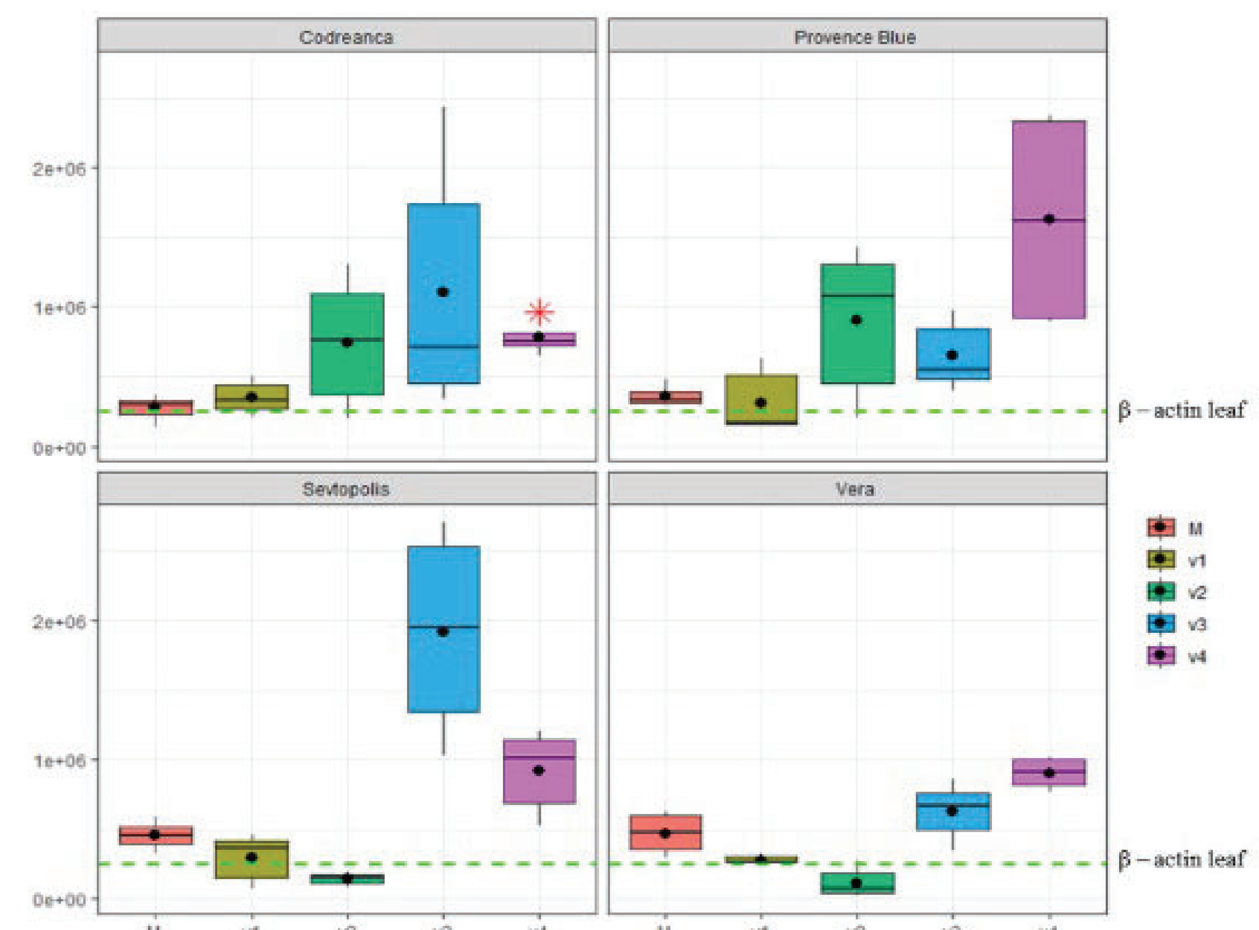
HMGR GENE (3-HYDROXY-3-METHYLGLUTARYL-COENZYME A REDUCTASE)

FLOWER



Boxplot diagram of HMGR gene expression at the flower level in all varieties and experimental variants of lavender, *Lavandula angustifolia* Mill. (M - control; v1 - plants watered with H_2O; v2 - plants watered with nutrient solution Hoagland standard; v3 – plants watered with Hoagland nutrient solution with K addition; v4 – plants watered with Hoagland nutrient solution with P addition). Values are mean ± S.E.M. (n=6).

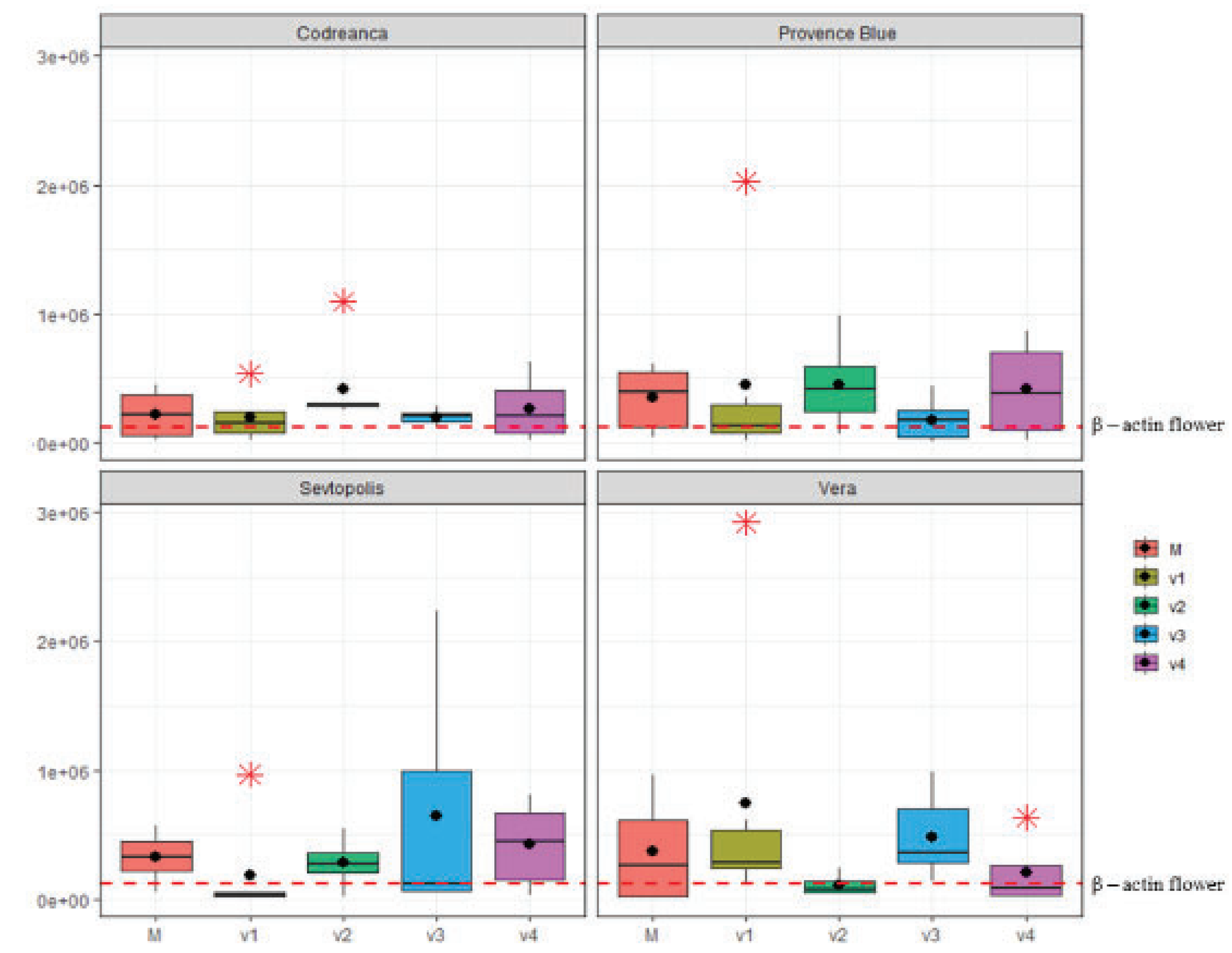
LEAF



Boxplot diagram of HMGR gene expression at the leaf level in all varieties and experimental variants of lavender, *Lavandula angustifolia* Mill. (M - control; v1 - plants watered with H_2O; v2 - plants watered with nutrient solution Hoagland standard; v3 – plants watered with Hoagland nutrient solution with K addition; v4 – plants watered with Hoagland nutrient solution with P addition). Values are mean ± S.E.M. (n=6).

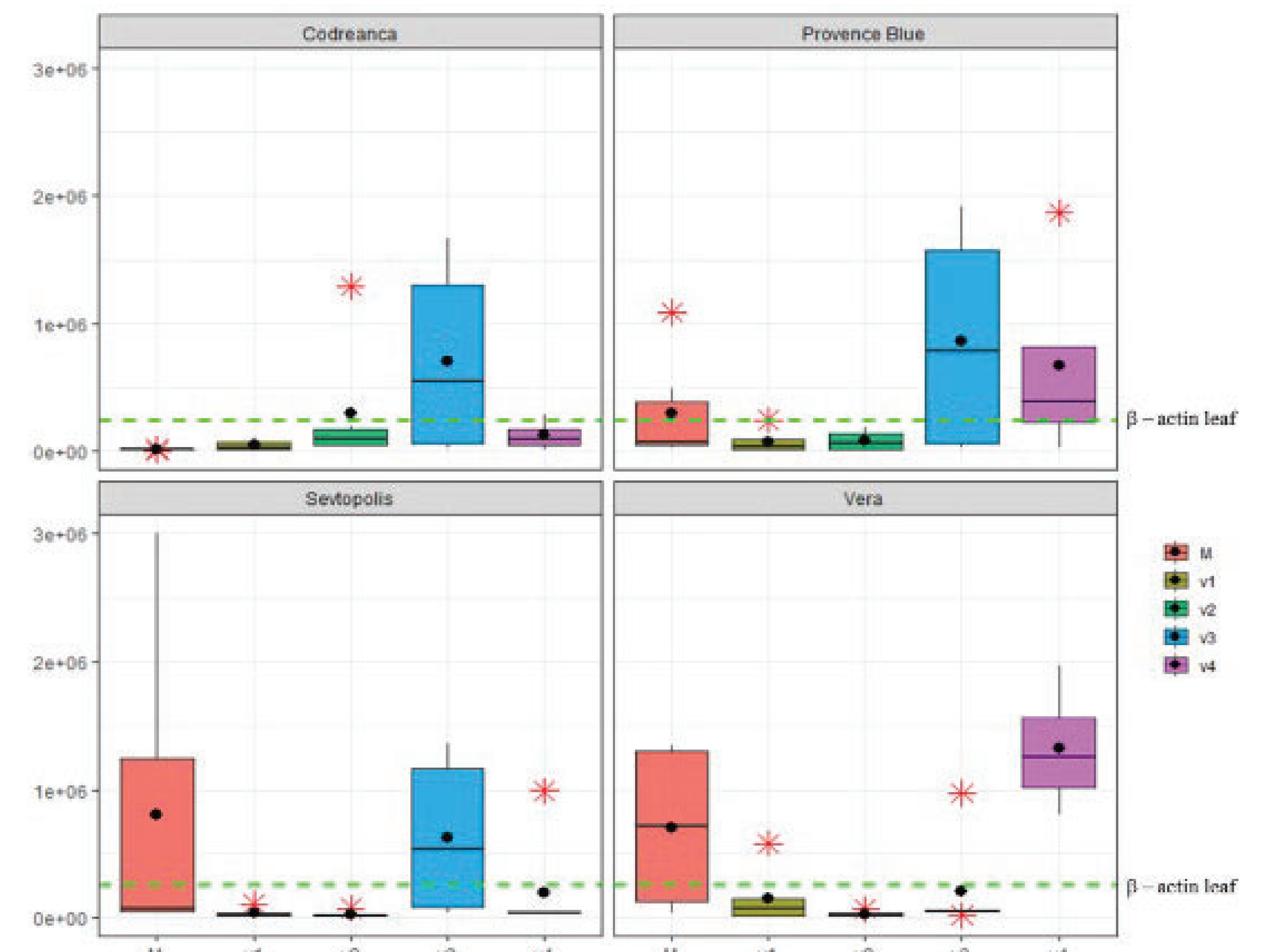
DXS GENE (1-DEOXY-D-XYLULOSE-5-PHOSPHATE SYNTHASE)

FLOWER



Boxplot diagram of DXS gene expression at the flower level in all varieties and experimental variants of lavender, *Lavandula angustifolia* Mill. (M - control; v1 - plants watered with H_2O; v2 - plants watered with nutrient solution Hoagland standard; v3 – plants watered with Hoagland nutrient solution with K addition; v4 – plants watered with Hoagland nutrient solution with P addition). Values are mean ± S.E.M. (n=6).

LEAF



Boxplot diagram of DXS gene expression at the leaf level in all varieties and experimental variants of lavender, *Lavandula angustifolia* Mill. (M - control; v1 - plants watered with H_2O; v2 - plants watered with nutrient solution Hoagland standard; v3 – plants watered with Hoagland nutrient solution with K addition; v4 – plants watered with Hoagland nutrient solution with P addition). Values are mean ± S.E.M. (n=6).

CONCLUSIONS

The results indicate that the HMGR gene was the foremost expressed gene, with high values in both flowers and leaves, followed, by the DXS gene, which showed higher values in flowers compared to leaves.