

VIII. INDUCEREA POLIPLOIDIEI LA UNELE SPECII FORESTIERE

Ing. LIA LEANDRU,
în colaborare cu :

biolog M. POPA,

ing. T. VLASE,
ing. ELENA PREDESCU

INTRODUCERE

Poliploidia este considerată unul din factorii genetici importanți în lucrările de ameliorarea plantelor, alături de selecție, hibridări și mutații. Ca și celelalte modificări ale numărului de cromozomi, poliploidia, realizată pe cale naturală sau artificială, reprezintă de fapt o formă particulară de modificare a eredității și participă la explicarea unor mecanisme ce duc la apariția de caractere noi. Ea exercită o influență complexă asupra morfologiei și fiziologiei plantelor.

Rezultatele ce se pot aștepta în domeniul ameliorării arborilor, prin inducerea poliploidiei pot fi concretizate în :

- forme cu creșteri mai mari sau însușiri noi silviculturale sau ecologice ;
- forme cu rezistență sporită la condiții extreme și deci posibilitatea extinderii arealelor existente ;
- forme mai plastice de folosit în lucrări de ameliorare ;
- forme mai rezistente la atacurile agenților biotici ;
- forme cu capacitate crescută de multiplicare pe cale vegetativă.

În cadrul temei de cercetare s-a urmărit stabilirea de metode eficiente și tehnici de lucru pentru inducerea poliploidiei la câteva specii forestiere și obținerea unui material poliploid de folosit în lucrări de ameliorare ulterioare.

Tratamente

Specia	Proveniența	Materialul tratat	Tratamentul	Modul de aplicare	C o n	
					concentrații în %; doze	
1	2	3	4	5	6	
Stejar*)	Cornetu	ghindă încolțită	colchicină	umectare	0,3; 0,4; 0,5	
			colchicină	imersia radicelelor	0,3; 0,4; 0,5	
			colchicină	imersie totală	0,3; 0,4; 0,5	
			colchicină	ungerea radicelelor și primordiilor	0,5	
			colchicină	imersie totală	0,2; 0,5; 0,65; 0,8; 1,0	
			colchicină	imersie totală	0,2; 0,5; 0,8; 1,0; 1,5; 2,0	
			colchicină	imersie totală	0,5; 1,0	
			colchicină	imersie totală	0,5; 1,0	
			colchicină	udarea solului în ghivece	0,2; 0,5	
			colchicină	tampoane pe vârful de creștere	0,1	
	plantule			colchicină	picări pe vârful de creștere	0,1
				colchicină	injecție în rădăcină, tulpină, mugure apical	0,1; 1,0
				colchicină	ungerea vârfului de creștere	0,5
				colchicină	imersie parțială, totală	0,2; 0,5; 1,0
				colchicină	infiltrație sub scoarță	1,0; 2 g pe ramură
Cornetu Snagov	arbore matur***)	colchicină	imersie totală	0,5; 1,0		

*) In majoritatea cazurilor s-a lucrat cu ghindă decorticată.

***) 2 becuri fluorescente LFA - 40/2 la distanța de 40-50 cm de obiect.

***) Înainte de deschiderea mugurilor s-a făcut o incizie în formă de T în care s-a introdus, izolat de mediul exterior cu ajutorul unei foi de material plastic.

aplicate

d i ŷ i			Tratament suplimentar	Exem- plare sau buc. tratate	Puiŷi existenŷi		Reu- ŷita %	Men- ŷinere (din reuŷitã) %	Observaŷii
in timp	tempe- ratura	pre- siunea			dupã pri- mul sezon de vege- taŷie	in toa- mna 1971			
7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
96 ore	t.c.	n	—	25	24	16	96	66	
48—200 ore	t.c.	n	—	125	115	32	92	28	
2½—5 ore	t.c.	vid	—	240	205	47	85	23	
1 datã	t.c.	n	—	45	38	18	84	47	
1,3,4 ore	t.c.	vid	1; 3 ore dupã 24, 48 ore	180	102	59	57	58	
48, 72 ore	t.c.	n	10 zile lu- minã con- tinuã**)	232	140	133	60	95	
48, 72 ore	6°C	n	3; 5 ore vacuum infiltraŷie	215	205	182	95	89	
1, 4 ore	t.c.	vid	—	150	141	82	94	58	
30, 45 zile	t.c.	—	15, 20 zile luminã continuuã	36	29	28	80	96	
1 pe zi	t.c.	n	4 zile	6	6	5	100	83	
1 pe zi	t.c.	n	1—10 zile	151	151	140	100	92	
1 pe zi	t.c.	n	1—3 zile	20	16	13	80	81	
1 datã	t.c.	n	—	12	10	2	83	20	
48—120 ore	t.c. 6°C	n	4 ore vacuum infiltraŷie	318	—	—	0	—	
				3	10	6	23	60	26 ghinde
1 pe zi			5 zile	60	5	4	8	80	34 ghinde

intre scoarŷã ŷi lemn, un fitil din bumbac prin care se ridica soluŷia din rezervorul alãturat; totul s-a

1	2	3	4	5	6
Stejar brumăriu	Craiova	ghindă	colchicină	ungere	1,0
			colchicină	injecție în endosperm iradiere*)	1,0
			raze X*)		500, 1000, 5000 r
		ghindă încolțită	raze X + colchicină	iradiere imersie totală	500, 1000, 5000 r
			colchicină	imersie totală	0,5; 0,8 0,5; 0,8
			raze X	iradiere	100, 200, 500 r
Stejar	Ploiești	ghindă încolțită	raze X + colchicină	iradiere imersie totală	100, 200, 500 r
			colchicină	imersie totală	0,5; 0,8 0,5; 0,8
			colchicină	imersie totală	0,2; 0,5; 0,65; 0,8;
			colchicină	imersie totală	1,0; 1,5; 2,0; 2,5
	Bolintin	ghindă încolțită	colchicină	imersie totală	0,65
			colchicină	imersie totală	0,65
Salcîm**)	Cornetu	ghindă în- colțită la care s-a în- depărtat țesutul meristema- tic la radi- cule sămînță scarificată	colchicină	umectare	0,1; 0,2; 0,3
			colchicină	imersie totală	0,1; 0,2... 1,0
	Cornetu Cărbunești		raze X	iradiere	500, 1000, 5000 r
			raze X + colchicină	iradiere imersie totală	500, 1000, 5000 r 0,1; 0,2

*) S-a folosit sămînță scarificată sau descorticată (după ținerea prealabilă 24-48 ore pe
**) în regimul kV — 200; mA —15; fără filtru; distanța focus animal 28 cm; debit 450 r/mi-

Anexa 1 (continuare)

7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1 dată				25	3	2	12	67	17 ghinde a căzut toată ghinda
1 dată			—	40	—	—	0	—	
—	—	—	—	75	36	32	48	88	
24 ore	t.c.	n	4 ore vacuum infiltrație	300	157	55	52	35	
24 ore	t.c.	n	4 ore vacuum infiltrație	100	71	20	71	28	
			—	75	45	40	60	88	
4 ore	t.c.	vid	—	300	155	143	52	92	
4 ore	t.c.	vid	—	100	57	51	57	88	
1—4 ore	t.c.	vid	1, 3 ore după 24, 48, 56 ore	125	71	35	57	49	
				75	65	38	87	58	
4 ore	t.c.	vid	—	300	215	167	72	77	
4 ore	t.c.	vid	—	100	78	50	78	64	
1, 3, 4 ore	t.c.	vid	1, 3 ore după 24, 48, 56 ore	372	220	114	59	52	
5 ore	t.c.	vid	tratamentul repetat du- pă 5 zile	60	34	17	57	50	
8 ore	t.c., 6°C	vid		108	63	22	58	35	
48, 72, 96 ore	t.c.	n	—	90	—	—	0	—	
45 ore	t.c. 6°C	n	—	2000	6	4	0,3	66	
—	—	—	—	150×2	5+2	6	2,3	85	
4 ore	t.c.	vid	—	300×2	—	—	0	—	

sugativă umedă).

nut; timp de iradiere 37''...12'30'' sau cu filtru 0,5 mm Cu; distanța focus animal 65 cm, debit 40 r/minut

1	2	3	4	5	6
		sămînță în curs de germinare	colchicină	udarea solului în ghivece	0,2
			raze X	iradiere	100, 200, 500 r
		plantule de 3—4 zile	raze X + colchicină	iradiere imersie totală	100, 200, 500 r
			colchicină	imersie radicalară	0,1; 0,2; 0,3; 0,4
			colchicină	imersie totală	0,1; 0,2; 0,3; 0,4
			colchicină	imersie totală	0,05
	Cornetu Tg. Jiu	plantule	colchicină	mt. Kopecky	0,1; 0,2
	Cărbunești	plantule de 3—4 zile	colchicină	tampoane pe vîrfurile de creștere	0,1; 0,2; 0,3
			colchicină	imersie radicalară sau totală	0,05; 0,1; 0,2
	Cărbunești Amaradia Perişor var. Oltenica	sămînță scarificată	colchicină	imersie totală	0,1; 0,2... 1,0
		sămînță scarificată	colchicină	imersie totală	0,2; 0,5
		plantule	colchicină	imersie cotiledoane	0,1; 0,2; 0,3; 0,5
			colchicină	imersie cotiledoane	0,1; 0,2
		butași de rădăcină	colchicină	imersie parțială, totală	0,2; 0,5; 0,6; 0,8
	Snagov Cornetu	butași de rădăcină	colchicină	imersie parțială, totală	0,2; 0,5; 1,0

Anexa 1 (continuare)

7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
10 zile	t.c.	n	—	100	—	—	0	—	**) 50% uscați din cauza inundațiilor
			—	150×2	60	28**	20	46**	
4 ore	t.c.	vid	2 ore după 24 ore	300×2	—	—	0	—	
72, 96 ore	t.c.	n	—	400	21	7	5	33	
4, 6 ore	t.c.	vid	—	300	34	2	11	6	
30'	t.c.	n	1 oră după 24 ore	100	1	1	1	100	
72 ore	t.c.	n	5 zile lumină continuă	150	12	5	8	41	
1 pe zi	t.c.	n	2—5 zile	100	23	10	23	43	
30'; 1 oră	t.c.	n	30' 1 oră după 24 ore; lumină continuă	275	—	—	0	—	
4+44 ore	t.c.	vid, n	—	500×3	4	4	0,2	100	
3, 19, 45 ore	t.c.	n	s-a ținut în germinator pînă la de- corticare apoi 48 ore lumină continuă	400	—	—	0	—	
1 pe zi	t.c.	n	10 zile	400	—	—	0	—	
1 pe zi	t.c.	n	15 zile apoi trecute în vase de vegetație și picate 5 zile	200	6	—	0	—	
6, 8, 48, 120 ore	t.c. 6°C	vid, n	—	285	—	—	0	—	
48, 120 ore	t.c. 6°C	n, vid	—	406	33	28	8	85	

1	2	3	4	5	6	
Molid	Turda	flori	colchicină	instilație	0,1; 0,2; 0,4	
		fructe în curs de creștere	colchicină	injecții în spațiul dintre seminte	1,0	
		arbore matur	colchicină	infiltrații sub scoarță sau în rădăcină	1,0; 2 g/ramură sau exem- plar	
		sămînță	raze X	iradiere	100, 200, 500 r	
	2 Gheorghieni Săcele Galu			raze X + colchicină	iradiere	100, 200, 500 r
				colchicină	imersie	0,2; 0,4; 0,6
			sămînță în curs de germinare	raze X	umectare, imersie iradiere	0,2; 0,4; 0,6 25, 50, 100 r
		Săcele		raze X + colchicină	iradiere	25, 50, 100 r
				colchicină	imersie	0,2; 0,4; 0,6
			sămînță	colchicină	imersie	0,2; 0,4; 0,6
	Maramureș Vrancea		plantule	colchicină	imersie	0,1; 0,2... 1,0
				colchicină	picări sau tamponare pe vârful de creștere	0,5; 1,0
		Maramureș		colchicină	imersie	0,3; 0,4
				colchicină	tulpinițe ungere vîrf de creștere	0,5
Vrancea		sămînță	colchicină	imersie	0,1; 0,2... 1,0	
			colchicină	imersie	0,1; 0,2... 1,0	
Maramureș Vrancea Mureș	sămînță		raze X	iradiere	100, 200, 500, 1000 r	
			raze X + colchicină	iradiere	100, 200, 500 r 0,2;	
				imersie	0,4; 0,6	

7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1/ zi			2, 3 zile	600	—	—	—	—	
1 dată				380	18	9	—	50	373 sem.
			—	1+3	27	13	0	48	136 g sem.
			—	150×5	—	—	0	—	Eșecul se datorește și condițiilor atmosferice temperatură ridicată și secetă din anul 1968
24 ore	t.c.	n	—	900×5	—	—	0	—	
20 ore	t.c.	n	—	300×5	—	—	0	—	
			—	150×5	—	—	0	—	
20 ore	t.c.	n	—	900×5	—	—	0	—	
20 ore	t.c.	n	—	300×5	—	—	0	—	
20 ore	t.c.	n	—	1000	—	—	0	—	
1 pe zi	t.c.		15 zile + perioade alternative cu lumină continuă	104	8	6	8	73	
2 ore/zi	t.c.	vid	1—12 zile	120	29	24	24	83	
1 dată			—	25	11	8	44	72	
68 ore	t.c.	n	—	1000× ×2	244	143	12	58	
96 ore	6°C	n	—	500×2	2	—	0,2	0	
			—	2400	325	203	13	62	
48, 72 ore	t.c.	n	—	1800× ×4	382	312	5	82	

1	2	3	4	5	6
Larice	Maramureș	sămînță umectată*)	raze X + colchicină	iradiere, imersie	25, 50, 100 r 0,2; 0,4; 0,6 0,5
		plantule	colchicină	picări pe vârful de creștere	0,1; 0,2... 1,0
		sămînță	colchicină	umectarea nisipului din patul de cultură	0,1; 0,2... 1,0
	Turda Austria	sămînță	colchicină	imersie	0,1; 0,2... 1,0
			colchicină	imersie	0,1; 0,2... 1,0
		sămînță	raze X	iradiere	100, 200, 500, 1000 r
			raze X + colchicină	iradiere imersie	100, 200, 500 r 0,2; 0,4; 0,6
		colchicină	umectarea nisipului	0,1; 0,2... 1,0	
			colchicină	udarea solului în ghivece	0,2
	Turda Austria	sămînță umectată	raze X + colchicină	iradiere, imersie	25,50, 100 r 0,2; 0,4; 0,6
	Săcele Austria	plantule	colchicină	imersie	0,4
			colchicină	picări pe vârful de creștere	0,5
sămînță		raze X	iradiere	100, 200, 500 r	
		raze X + colchicină	iradiere umectare, imersie	100, 200, 500 r 0,2; 0,4; 0,6	
		colchicină	umectare imersie	0,2; 0,4; 0,6	
sămînță în curs de germinare	raze X	iradiere	25,50-100 r		
Ulm	Ștefănești	plantule	raze X + colchicină	iradiere imersie	25, 50, 100 r 0,2; 0,4; 0,6
			colchicină	imersie picări pe vârful de creștere ungeră cu lanolină	0,2; 0,4; 0,6 0,5; 1,0 0,5

*) Ținuă 24 ore pe sugativă, umedă.

Anexa 1 (continuare)

7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
24, 48 ore	t.c.	n	—	2800	290	140	10	48	
1 pe zi	t.c.	n	10 zile, 20 zile lumină continuă	100	52	30	52	57	
7—15 zile	t.c.	n	30 zile lumină continuă	1000	6	5	0,6	83	
68 ore	t.c.	n	—	1000	—	—	0	0	
96 ore	6°C	n	—	1000	—	—	0	0	
			—	1600	17	7	1	41	
48, 72 ore	t.c.	n	—	4800	19	4	0,4	21	
1 pe zi	t.c.	n	10 zile	1000	—	—	0	—	
1 pe zi	t.c.	n	15 zile	100	—	—	0	—	
24, 48 ore	t.c.	n	—	2800	18	3	0,6	17	
2 ore/zi	t.c.	vid	1—12 zile	120	81	2	67	2	
1 pe zi	t.c.	n	15 zile	30	8	—	26	0	
			—	300	—	—	0	—	
24 ore	t.c.	n	—	1800	—	—	0	—	
24 ore	t.c.	n	—	1600	—	—	0	—	
			—	300	—	—	0	—	
20 ore	t.c.	n	—	1800	—	—	0	—	
20 ore	t.c.	n	—	600	—	—	0	—	
1 pe zi	t.c.	n	1—3 zile	280	80	37	28	46	
1 dată			—	80	25	14	31	56	

Analize

Specia	Tratament aplicat, material	Material analizat*)	Număr de:		C e l u							
			preparate	celule analizate	13	17	18	19	20	21	22	
Stejar	umectări cu colchicină 0,3—0,5% 96 ore, ghindă încolțită	vîrfuri de radice	21	171							4	2
	imersie parțială în colch. 0,3—0,5%, 48—96 ore, ghindă încolțită	idem	44	333			1		1	1	7	
	imersie totală în colch. 0,3—0,5%, 2 ½—5 ore vid, ghindă încolțită	idem	74	378					5	1	9	
	ungerea cu lanolină cu colch. 0,5%, ghindă încolțită	idem	36	228					1	4	5	
	imersie totală în colch. 0,65%, 5 ore în vid, ghindă încolțită	vîrfuri de creștere	14	146								
	imersie zilnică (5) în colch. 1% la ghindă în creștere	idem	4	36								
	infiltrație sub scoarță	idem la puștii rezultați	8	83								
Salcîm	infiltrații sub scoarță colch. 1%	vîrfuri radice la puștii rezultați	5	65				1	52	2	3	
	injecții în floare	idem	1	25					25			
	injecții în păstaie cu 0,1%	idem	6	107	1	3		1	86		1	
	injecții în păstaie cu 0,2%	idem	2	25								
	imersie totală în colch. 0,1—0,4% vid, 4—6 ore; plantule	idem	34	126		1	1		86	1		
Molid	imersie în colch. 0,2—0,4% 48 ore, sămîntă	idem	37	162								3
Larice	imersie colch. 0,2—0,4%, 48 ore sămîntă	idem	6	43					2	1	3	

*) S-a folosit metoda Feulgen la rădăcini și metoda cu hidroxichiroleină la frunze.

citologice

lescu		cromozomi																									
23	24	25	26	27	28	30	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48				
6	128	2	1	7		2	1	1			1	1							3	1	1	2	8				
1	217	8	1	2	3	1	2				6	1	1						2	3	2	4	68				
4	102	2	3	2	1	3	2		2	9	98	18	15	1	2	1	1		1	4	12	11	70				
2	191	3	2	1	2	3		1		4	6	4	2						1		1	1	4				
	146																										
	36																										
	83										1												3				
	4																										
	7																										
	15																										
	25																										
		5										2			26		3				1						
1	101	4		2		1				1	1				2						1		46				
1	31										2		1										2				

MATERIAL ȘI METODA

S-a lucrat la stejar, salcîm, ulm, molid și larice folosindu-se ca material biologic, semințe în repaus sau în curs de germinare, plantule, puieți, butași, flori, fructe în curs de creștere, arbori maturi.

Ca agent poliploidizant s-a utilizat colchicina, într-o gamă largă de diluții. Uneori materialul a fost sensibilizat cu raze X. Colchicina s-a folosit sub formă de soluții apoase de 0,05...2,5% sau inclusă în lanolină în proporție de 0,5 sau 1,0% și s-a administrat prin imersare totală sau parțială, la presiune normală sau în vid, la temperatura camerei sau la 6°C, prin umectare, picurare pe virfurile de creștere, injectare, infiltrații sub scoarță sau în rădăcină, ungere.

Razele X au fost în doze de 25...5 000 r și iradierile s-au făcut cu aparatul TUR-250.

În unele cazuri materialul a beneficiat de lumină continuă.

În general, tratamentele s-au aplicat diferențiat, în doze sau concentrații mai mici la rășinoase și mai ridicate la foioase, mai mici la sămînța în curs de germinare, plantule, flori și mai mari la sămînța în stare latentă. În anexă acestea se prezintă detaliat pe specii, materiale biologice, condiții de aplicare.

S-au asigurat condiții optime de creștere și fito-sanitare.

Verificarea materialului colchicinizat s-a făcut prin analize citologice, fiziologice, biochimice, histochemice și rezultatele se prezintă în anexă, cu indicarea metodelor folosite.

REZULTATE

Principalele lucrări efectuate și rezultate obținute sînt sintetizate în anexa 1, uneori grupate pentru simplificarea prezentării. S-au încercat în total 145 variante la stejar, 177 la salcîm, 327 la molid, 148 la larice, 7 la ulm. Reușita este diferită în funcție de specie, proveniență (uneori), material biologic, concentrație, mod de administrare.

La materialul tratat s-au efectuat pe parcurs analize citologice, biochimice, fiziologice, cum și unele măsurători prezentate în anexa 2 și tabelele 1, 2, 3.

Puieții rezultați în urma tratamentelor se află plantați la loc definitiv la Snagov-Vlăsia și Ștefănești (tabelul 4). Excepție fac cei 508 puieți de molid aflați într-un repicaj la Vlăsia și care se vor planta în primăvara viitoare. Tot materialul este sub observația și îngrijirea laboratorului de specialitate, urmînd ca la timpul potrivit să se continue lucrările.

La materialul tratat s-au înregistrat, în diferite etape, pierderi mari, care au mers pînă la 100%. Ca urmare a colchicinizării, duratei și intensității ei, în organismele respective s-au produs o serie de reacții; principalele funcțiuni n-au mai decurs normal și unele exemplare au pierit în scurt timp. Altele au continuat să trăiască și urmările s-au făcut vizibile, de cele mai multe ori, prin modificări morfologice și de

**Fracțiuni izoperoxidazice în puietii de stejar rezultați din ghindă
colchicinizată, în primul an de vegetație**

Nr. probei	Materialul analizat	Tratament aplicat	Fracțiuni catodice *)						Fracțiuni anodice*)		
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
1	Tulpini și frunze	colch. 0,5%, 48 h	19	2	6	21	11	6	13	21	8
5	idem	martor	15	2	2	11	8	4	7	18	10
2	rădăcini	colch. 0,5%, 48 h	29	9	8	30	14	16	10	15	9
6	idem	martor	15	7	2	17	9	13	7	12	5
3	colet	colch. 0,5%, 48 h	20	5	3	24	5	10	4	13	6
7	idem	martor	17	5	2	23	6	8	10	15	8
4	cotiledoane	colch. 0,5%, 48 h	5	—	3	20	2	5	5	7	3
8	idem	martor	5	—	3	11	2	4	3	6	4

S-a lucrat cu probe medii; extracția în tampon Veronal pH = 8.6, separarea electroforetică pe agar-agar.

*) Valorile reprezintă unități densitometrice.

creștere, însoțite de obicei și de modificări citologice, fiziologice, biochimice. Dintre aceste plante unele au putut să supraviețuiască și să se dezvolte în continuare, altele și-au încetinit treptat, activitatea și s-au uscat, sau au pierit ca urmare a atacurilor de dăunători. Puietii care au supraviețuit sînt și ei de mai multe categorii. Unii nu sînt afectați de modificările citologice dorite, respectiv mărirea numărului de cromozomi, deci nu prezintă interes și în sfîrșit exemplarele poliploide. Acestea pot să-și păstreze condiția poliploidă sau mixoploidă care le-a fost indusă, dar pot și să revină treptat la normal. Certitudinea unui exemplar poliploid se obține numai în momentul înfloririi, prin analize în microsporogeneză.

Pe specii situația se prezintă în felul următor :

Stejar. Apreciind reușita tratamentelor după procentul de puietii viabili la sfîrșitul primului sezon de vegetație, față de numărul de semințe sau puietii tratați, se poate spune că stejarul s-a dovedit o specie robustă care se pretează la colchicinizare. Valorile au fost cuprinse între 80 și 100% cînd s-au tratat puietii, 48 și 71% cînd s-a tratat ghindă și 52 și 96% la ghinda încolțită. S-au obținut rezultate slabe, între 0 și 12%, cînd s-a tratat ghindă în curs de creștere.

Pe specie, procentul de puietii colchicinizați obținuți este de 67%. Iradierea ghindei cu 500—5 000 r se pare că nu favorizează ploidia și a avut un efect negativ asupra creșterii în înălțime, în primii 2 ani. De altfel, doza de 5 000 r se poate considera practic letală. Iradierile mai slabe, de 100—500 r, la ghinda încolțită au avut un efect de ușoară stimulare a creșterii în înălțime, remarcat și la variantele colchicinizate. În urma tratamentelor la presiune scăzută, modificările morfologice au fost mai evidente și timpul de tratare scurtat. Ghindele în curs de creștere, în care s-a introdus colchicina prin injecție, s-au necrozat și au

Unele caracteristici dimensionale și fiziologice la puieții de salcîm rezultați din butași colchicinizați, în primul an de vegetație pepiniera Snagov-Vlășia

Proveniența	Cornetu			Snagov-7		Snagov-5		Snagov-6			Snagov-3		
	martor	0,2 % 120 h t. c.	0,5 % 120 h t. c.	martor	0,2 % 120 h t. c.	martor	0,2 % 48 h t. c.	martor	0,2 % 120 h 6°C	0,5 % 120 h 6°C	martor	0,2 % vid 8 h	0,5 % vid 8 h
Nr. puieți	6	12	4	4	1	6	2	4	2	4	8	2	3
Nr. butași	7	15	15	5	25	7	25	10	26	25	21	25	26
Înălțimi medii (cm)	122	125	129	130	***)	130	171	138	***)	***)	138	167	142
Diametre medii (mm)	11,5	12,2	14,5	16,8	—	11,5	16,0	12,0	—	—	13,2	15,5	13,2
Asimilația*) la 5.08	168,7	115,5	133,0	18,0	78,0	83,8	63,0	149,0	72,0	70,0	133,2	79,6	90,0
12.08	124,4	80,8	70,2	135,4	40,4	99,8	54,9	129,0	55,5	63,1	101,9	72,3	74,0
7.09	49,5	50,0	49,2	50,1	32,7	45,0	35,5	34,6	33,0	—	49,0	—	—
Transpirația**) 1.08	532	660	703	489	652	474	684	508	693	661	482	600	550
1a 10.08	423	600	602	490	516	430	571	477	533	581	444	575	599
20.08	527	624	749	604	613	461	536	483	585	582	482	567	575
6.09	350	365	196	356	276	344	357	417	244	—	412	—	—
14.09	375	271	270	382	256	450	286	431	289	—	433	—	—

*) S-a determinat prin metoda Sachs și se dă în mg/dm²/8 h.
 **) s-a determinat prin metoda Ivanov și se dau medii diurne în mg/dm²/h.
 ***) Ros de icpur.
 Observație. La cclelalte variante nu s-au obținut puieți viabili.

Tabelul 3

Acizii nucleici și peroxidazele din frunze la puietii colchicinizați de salcim, în vîrstă de 2 ani
— plantația Ștefănești

Nr. probei	Tratament aplicat, material	Acizi nucleici*) în μg la 1 g substanță verde		Izoenzime peroxidazice**)	
		ADN	ARN	Fracții anodice	Fracții catodice
1	martor	780	35 480	3	0
2	colchicină 0,2%, 120 ore la 6°C butași	810	33 200	3	0
3	idem 0,5%	775	35 410	3	0
4	martor	815	29 560	3	0
5	colchicină 0,2%, 8 ore în vacuum, butași	882	41 740	3	1
6	idem 0,5%	882	30 350	3	0
7	martor	795	32 260	3	0
8	colchicină 0,3% tampon pe vârful de creștere 5 zile, plantule	805	44 400	3	2
9	idem	792	42 370	3	2
10	martor	798	30 350	3	0
11	colchicină 0,4% , 48 ore, semințe metoda Kopecky,	904	42 280	3	2
12	plantule	945	46 680	3	2

*) Determinările s-au făcut după metoda Smillie și Krotkov (1960).

***) Determinările s-au făcut pe coloane de poliacrilamidă.

Tabelul 4

Culturi cu puietii colchicinizați

Stațiunea	u. a.	Specia	Nr. de pui ți	Schema de plantare	Suprafața totală afectată	Data instalării
Ștefănești	31	stejar	584	2,5×2,5 m	4 410 m ²	nov. 1968 și mar. 1970
		salcîm	201	2,5×2,5 m		
		ulm	61	2,5×2,5 m		
	21 _{II}	salcîm	69	2,5×2,5 m	813 m ²	mar. 1970
	21 _I	larice	2	3×3 m	20 m ²	mar. 1970
Snagov-Vlășia	114	stejar	958	1,5×1,5 m în triunghi (chinconz)	15 000 m ²	dec. 1969
		pepinieră	molid	508		

căzut. Puietii obținuți din ghinda recoltată de pe ramurile la care s-au efectuat infiltrații sub scoarță, ca și cei din ghindă imersată în colchicină în timpul creșterii, nu prezintă caracteristici deosebite. De menționat totuși că, în urma infiltrațiilor s-au găsit celule cu număr dublu de cromozomi la frunzele de pe ramurile tratate. Ca urmare a udării solului în ghivece cu soluții de colchicină un timp destul de îndelungat, 30 și 45 zile, puietii au prezentat îngroșări ale rădăcinilor și creșteri reduse, dar la sondajele citologice nu s-au găsit celule cu număr modificat de cromozomi. Din butașii de rădăcină s-au dezvoltat lăstari la un procent de 50% din ei în special la variantele tratate prin vacuum infiltrație, dar s-au uscat pentru că nu li s-a dezvoltat sistemul radicular. De altfel nici butașii martor n-au format rădăcini.

Variantele tratate au înălțimi și diametre mai mari sau mai mici ca martorul, fără să se poată stabili o legătură directă între concentrația colchicinei sau durata tratamentului și creștere.

Modificări morfologice s-au înregistrat la majoritatea puietilor colchicinizați, fără să fie totuși o regulă. Ele au apărut imediat după tratament și sînt mai evidente la organele care au fost în contact direct cu colchicina. S-au menținut mai mult sau mai puțin în timp și au constat în încetinirea sau stagnarea creșterii în înălțime, îngroșarea tulpinii, sărăcirea sistemului radicular, modificări ale mărimii și lobării frunzelor (mergînd pînă la forma la care au rămas numai nervurile mult îngroșate, fig. 1), colorarea mai intensă a frunzelor, rotunjirea mugurilor. De menționat că majoritatea acestor particularități dispar în al doilea an de vegetație și chiar exemplarele cu cele mai multe modificări morfologice s-au dezvoltat normal.

Atunci cînd tratamentul se face la ghindă încolțită sau plantule, vîrfurile radicelelor se îngroșă și iau un aspect caracteristic, glomerular (fig. 2). La analizele citologice efectuate, în aceste țesuturi s-au găsit celule cu număr dublu de cromozomi în proporție de 30—90%. Creșterea în lungime se reduce mult sau stagnează; apar radicele secundare, cu aspect normal. Mugurii apicali iau un aspect caracteristic (fig. 4) și tulpinițele nu mai cresc, iar după un timp apar fie ramuri laterale care se dezvoltă și devin ax principal, fie lăstari noi și primul mugure se usucă. Dacă se îndepărtează sistematic țesuturile noi, planta pierce cu timpul. Intensitatea tratamentului influențează dezvoltarea ulterioară, aceasta fiind cu atît mai înceată cu cît tratamentul a fost mai lung sau soluția mai concentrată.

Lungimea stomatelor *) a fost mai mare la mai multe exemplare colchicinizate, dar diferențele n-au fost semnificative.

La puietii rezultați din ghindă tratată s-au făcut unele analize biochimice, determinîndu-se fracțiunile de peroxidaze. Prezența lor în cantități sporite față de martor indică un metabolism mai activ (fig. 5 și tabelul 1). Tratamentul cu colchicină s-a făcut la ghindă, iar analizele

*) Măsurătorile s-au efectuat pe mulaje de colodiu.



Fig. 1 — Modificări morfologice la un puiet de stejar colchicinizat

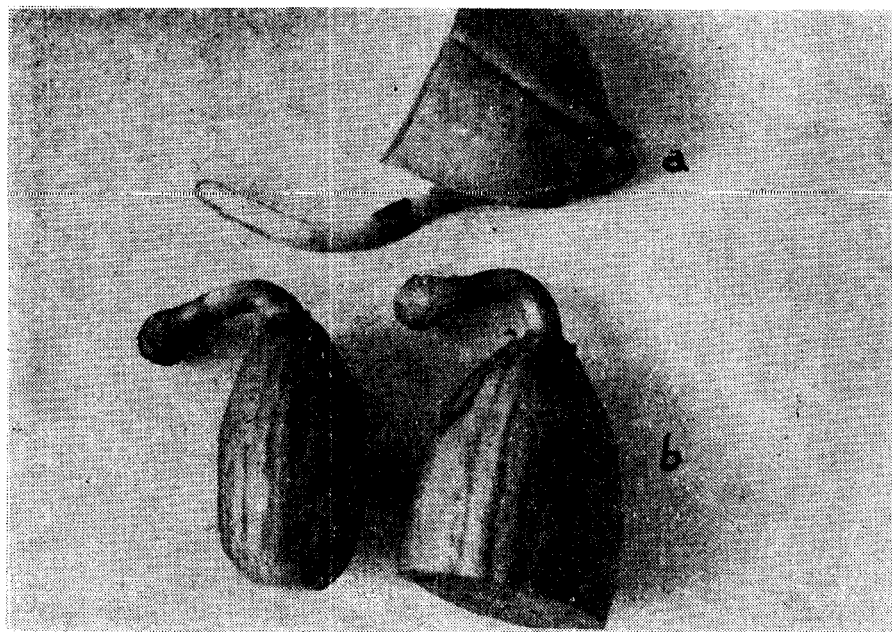


Fig. 2 — Ghindă incolțită : a — martor ; b — colchicinizată



Fig. 3 — Tulpiniță de stejar-martor

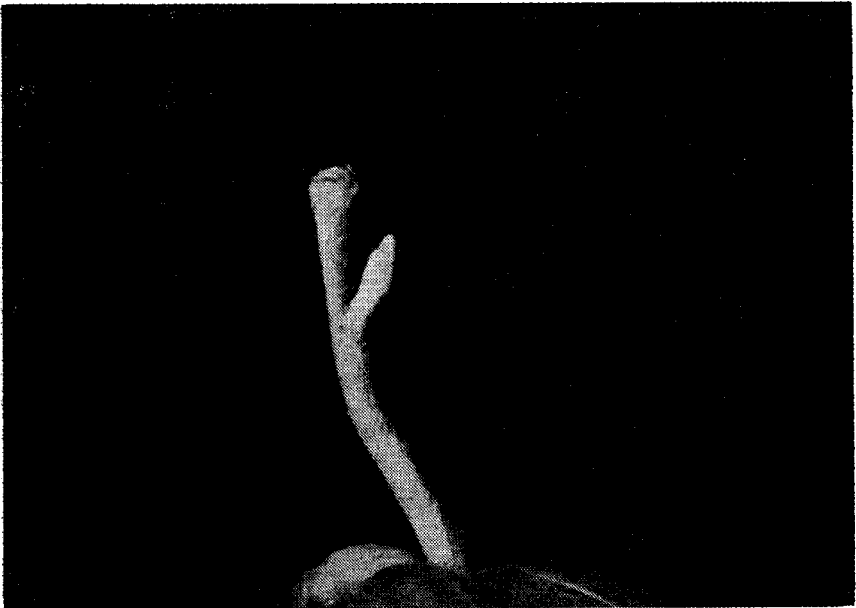


Fig. 4 — Tulpiniță de stejar — după tratament

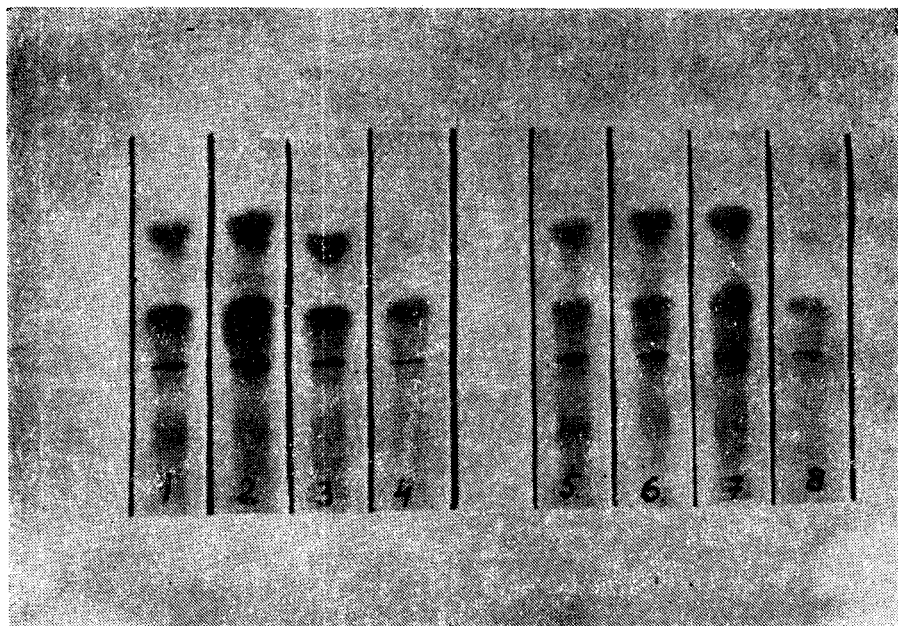


Fig. 5 — Frațiuni peroxidazice la puiții de stejar :
1—4 puiți din ghindă colchicinizată ; 5—8 puiți martor

la puiți după terminarea primei creșteri. Este de reținut efectul remanent al colchicinizării.

Puiții colchicinizați de stejar, în total 1 542 buc. sînt plantați în 2 blocuri experimentale, în pădurea Snagov-Vlășia și Ștefănești (tabelul 6). Menținerea, sau mai corect supraviețuirea, s-a obținut făcînd raportul procentual între numărul de puiți existenți în prezent, față de numărul inițial de puiți. Aceasta variază la stejar între 20 și 96% fiind în medie de 63%. Nu se evidențiază o legătură directă între tratamentele efectuate sau reușită și menținere.

În concluzie metoda cea mai practică, simplă și eficientă, de inducerea poliploidiei la stejar este imersarea totală cu vacuum infiltrație a ghindei încolțite, pentru 5 ore în soluție de 0,5—0,8%. O iradiere prealabilă de 100—500 r pare să aibă un efect favorabil. Celelalte tratamente au fie un efect mai slab (tratarea plantulelor, ghindei) fie că sînt mai greu de aplicat (infiltrațiile sub scoarță), fie mai costisitoare (udarea solului). Pentru a se economisi soluție ghinda se poate secționa lăsîndu-se numai 2/3 sau chiar 1/2.

Soluțiile mai slabe au o eficacitate mai redusă, iar cele mai concentrate (1,0 ; 1,5 ; 2,0%) sînt mai costisitoare și evidențiază aceleași efecte.

Salcim. La salcim, după cum reiese din date, situația este diferită față de cea de la stejar. Rezultatele sînt mult mai slabe, reușita fiind în medie de 4,1%. La variantele în care tratamentele s-au făcut asupra semințelor valorile sînt adesea zero, dar la cele cu tratarea plantulelor

în general mai mari, ajung pînă la 23%. Rezultate destul de bune s-au obținut, în unele cazuri, prin tratarea butașilor de rădăcină.

Mortalitatea la plantule este foarte ridicată și din sute de semințe se obțin doar cîteva plantule sau nu se obține nimic. Faptul se datorează nu atît tratamentului cu colchicină, care de altfel trebuie făcut cu soluții mult mai slabe ca la stejar, ci mai ales fuzariozei care le distruge în masă.

Plantulele tratate stagnează mai multe săptămîni, nefiind capabile să-și dezvolte un sistem radicular și în această perioadă pier. O oarecare ameliorare se poate realiza printr-un regim de lumină prelungit. Cele care reușesc să se redrezeze cresc apoi foarte încet și în primul an abia ating 10—15 cm. În anii următori cresc însă activ și la 2—3 ani au dimensiunea martorului. Atunci cînd se tratează sămînța, de cele mai multe ori, plantulele nu mai au energia să se elibereze de testă. La tratamentele prin picări sau tamponare pe vîrfurile de creștere, rezultatele au fost mai bune întrucît nu a fost afectat sistemul radicular. Cîteva plante viabile s-au obținut prin metoda Kopecky, dar la verificările citologice nu s-au găsit modificări ale numărului de cromozomi. Iradierile cu 500—5 000 r la semințe uscate au dus la o răsărire foarte slabă. Dozele mici, de 100—500 r, administrate la semințele în curs de germinare, par să aibă un efect stimulator asupra creșterii. În urma udării cu colchicină (0,2%) a solului în care au fost semănate semințe scarificate, s-au obținut plantule cu hipocotilul mult îngroșat și cotiledoanele intens colorate, care au pierit în scurt timp.

La sondajele citologice efectuate la diferite tratamente, s-au găsit celule tetraploide și aneuploide (anexa 2). Modificări morfologice evidente apar imediat după tratament și constau în îngroșarea și glomerularea radicelelor în toate cazurile, cu excepția celor cu tamponări pe vîrfurile de creștere, îngroșarea hipocotilelor și cotiledoanelor, colorarea intensă a cotiledoanelor, frunze mici și asimetrice, uneori marmorate sau clorotice, reducerea pronunțată a creșterii în înălțime.

La încercările de a se introduce colchicină în flori nu s-a obținut nici un rezultat; în scurt timp s-au uscat toate florile și cele cîteva pătăi care se formaseră au căzut înainte de a ajunge la maturatie. Fructele în care s-a injectat colchicină s-au dezvoltat aparent normal, dar s-au obținut foarte puțini puieti din sămînța rezultată (5%). Din sămînța recoltată de la exemplarele la care s-au făcut infiltrații în rădăcină sau sub scoarță s-au obținut 27 puieti. În general sînt mai mici ca loturile martor, au avut o dezvoltare mai înceată și manifestă o tendință pronunțată de ramificare. Ca și în cazul anterior, injectarea fructelor, nu s-au găsit modificări la numărul de cromozomi la preparatele din frunze.

Încercările cu butași de rădăcină au dat rezultate în cazul proveniențelor Snagov și Cornetu, cu o medie de 8% și variații mari de la un tratament la altul. Puietii rezultați s-au dezvoltat bine și pînă la sfîrșitul sezonului de vegetație depășeau 1,5 m. Numărul de stomate și lungimea lor, practic, au fost aceleași la puietii martor și colchicinizați. În a doua parte a verii s-au făcut măsurători de asimilație și transpirație și a rezultat că puietii din variantele tratate, în comparație cu martorul, asimilează în 8 ore cantități mai mici de substanță uscată. Transpirația

este mai intensă decît la martor în luna august și mai mică toamna (tabelul 4). O transpirație mai intensă denotă o creștere mai activă, lucru confirmat de valorile ridicate înregistrate la înălțimi și diametre de puietți tratați. Faptul că la acești puietți s-au înregistrat cantități mai mici de substanță uscată se poate datora unei activități mai intense de transport și transpirație, pentru care nu s-au efectuat analize. La aceiași puietți s-au efectuat și analize histochimice la frunze *). Metodele utilizate pentru evidențierea acizilor nucleici și glucidelor sînt descrise pentru determinări calitative, dar s-a constatat că se pot face și unele aprecieri semicantitative. Astfel, folosindu-se reactivi specifici, colorațiile care evidențiază prezența acizilor nucleici în celulele epidermelor, țesutului palisadic și țesutului lacunar sînt în toate cazurile mult mai clare și mai pronunțate la frunzele de la puietii colchicinizați decît la puietii martor. Prezența glucidelor este de asemenea mai evidentă la frunzele puietilor tratați. Analizele de acizi nucleici și enzime, efectuate la frunze de la exemplare de 2 ani rezultate din sămînță, plantule sau butași tratați cu colchicină, evidențiază în unele cazuri modificări cantitative față de martori (tabelul 5). Aceste diferențe sînt mai pronunțate la exemplarele rezultate din sămînță sau plantule și mai puțin la cele din butași. Ele constau în creșterea cantității, de ARN și ADN și în apariția a două benzi catodice de izoperoxidaze.

Menținerea, între 6 și 100%, este foarte ridicată în comparație cu reușita și pe specie atinge valoare de 66%, depășind stejarul.

Inducerea poliploidiei la salcîm pare să fie mai eficientă prin tratarea plantulelor (prin imersie totală sau parțială în soluții de 0,1—0,4%, la presiune scăzută, timp de 4—6 ore) sau a semințelor (prin imersie 48 ore în soluție 0,4%). Deși randamentul este foarte scăzut modificările biochimice înregistrate indică un efect mai profund la aceste variante față de butășiri sau picări pe vîrfurile de creștere. La această specie este mai indicat să se lucreze cu loturi mici, întrucît necesită o îngrijire mai atentă.

Ulm. A fost mai puțin studiat, nu a ridicat probleme la tratarea vîrfurilor de creștere a plantelor cu colchicina 0,5—1,0%. Tratamentele s-au făcut numai la plantule și procentul de reușită a fost de 30%, iar de menținere de 50%. Vigoarea de creștere și elementele dimensionale la puietii tratați sînt asemănătoare cu cele ale puietilor martor.

Molid. Molidul se prezintă cu o reușită neuniformă ce variază de la zero, în multe cazuri, la 52%. Pe specie valoarea medie este destul de ridicată și anume 10%.

În general, valorile cele mai mari s-au obținut la variantele în care s-au tratat plantule, indiferent de metodă (picări pe vîrfurile de creștere, ungerea mugurelui apical, sau imersia tulpinițelor). Tratamentele la semințe au înregistrat pierderi mari, reușita fiind în medie 3%. Există un lot de peste 500 puietți rezultați din sămînță colchicinizată cu soluții de la 0,1 la 1,0% și timp pînă la 72 ore (fără a fi fost atins,

*) S-a folosit pirolina G și verde de metil pentru evidențierea acizilor nucleici ; acidul picric — reactivul Schiff pentru glucide.



Fig. 6 — Molid. Celulă diploidă



Fig. 7 — Molid. Celulă tetraploidă



Fig. 8 — Larice. Celulă diploidă

se pare, pragul letal). Iradierea semințelor uscate sau umectate pare să aibă un efect ușor favorabil. Umectarea nisipului în care germinează semințe cu soluții de colchicină și în special imersarea semințelor la temperaturi coborâte au dat rezultatele cele mai slabe.

La plantulele rezultate din sămînță colchicinizată s-a observat o îngroșare și glomerulare a radicelelor, și la sondajele citologice s-au găsit celule cu 48 cromozomi (fig. 7). La plantulele la care se tratează partea aeriană mugurii devin sferici și nu se mai dezvoltă; uneori, după câteva luni își reiau creșterea printr-un alt mugure de pe tulpiniță. Au un procent ridicat de menținere, de altfel explicabil, întrucît sistemul radicular este normal. În general, plantulele care reușesc să treacă de perioada critică și rezistă pînă la sfîrșitul primului sezon de vegetație, se mențin satisfăcător în continuare și pe specie media este de 62%.

Larice. La larice, dintre toate speciile încercate, s-au obținut rezultatele cele mai slabe (în medie 0,5%). Tratamentele au fost identice cu cele aplicate la molid. Eșecul a fost total în 10 din 15 cazuri; în 3 cazuri reușita a fost 1 sau mai puțin și au fost 2 cazuri cu rezultate ce se pot considera excepționale, 67 și 26%, cînd tratamentul s-a aplicat la plantule, la partea aeriană. Modificările morfologice și citologice sînt identice cu cele descrise la molid (fig. 9), dar puietii par mai viguroși și cresc mai repede, aceasta fiind de altfel o caracteristică a speciei. Procentul de menținere a fost de asemenea, neegal și variantele care



Fig. 9 — Larice. Celulă tetraploidă

avuseseră reușita cea mai bună au avut apoi menținerea cea mai slabă, zero sau 2, iar celelalte între 17—41%. Pe specie valoarea este foarte coborâtă, numai 16%.

Observațiile și aprecierile făcute la molid în legătură cu eficacitatea tratamentelor sînt valabile și la larice.

CONCLUZII

Privind în ansamblu lucrările efectuate și rezultatele obținute se desprind unele concluzii și anume :

— Aptitudinea de a suporta colchicinizarea și a produce poliploizi variază de la specie la specie. La stejarul pedunculat și stejarul brumăriu s-au obținut rezultate bune cu diferite grupe de materiale biologice sau tratamente, și procentul de material colchicinizat apare ca foarte ridicat. Ulmul, cu care s-a lucrat comparativ mult mai puțin, a dat rezultate satisfăcătoare. Urmează apoi, surprinzător întrucît la rășinoase sînt citate în general rezultate foarte slabe, molidul. Salcîmul s-a dovedit o specie sensibilă. Tratamentul, deși cu soluții diluate, reduce vitalitatea plantelor și rezultatele sînt slabe, comparabile de altfel cu cele obținute în alte țări. La larice s-au înregistrat valorile cele mai mici, care în bună parte s-au datorat și fuzariozei.

— Verificările citologice, constând în numărarea cromozomilor, în celulele somatice ale țesuturilor, care au fost sau nu în contact direct cu colchicina, au dovedit că în urma tratamentului s-a obținut la toate speciile efectul dorit, respectiv dublarea (tetraploidia) sau mărirea (aneuploidia) numărului de cromozomi. Proporția celulelor afectate este variabilă de la un exemplar la altul, dar efectul colchicinii este cert.

— Materialul biologic folosit a reacționat în mod diferit la tratament. Se poate spune că semințele încolțite sau neîncolțite sînt cele mai receptive la tratament, în timp ce plantulele sau puietii, la care tratamentele se aplică la vîrfurile de creștere, sînt mai puțin afectați. Faptul se poate explica prin aceea că au o zonă mică de contact cu colchicina și mai ales rădăcina intactă care alimentează planta, și îi dă vigoarea de a se apăra și reface. Butașii, pentru salcîm, pot să prezinte interes, avînd în vedere reușita slabă prin celelalte metode, dar analizele biochimice lasă să se întrevadă că urmările sînt mai puțin profunde. Cu flori, fructe în creștere, arbori maturi este puțin mai dificil de lucrat și rezultatele par să nu prezinte un interes deosebit.

— Folosirea colchicinei sub formă de soluție este un procedeu ușor de aplicat și economic. Ca mod de tratare este recomandabilă imersia, iar vacuum infiltrația este preferabilă tratamentului la presiunea normală și în plus are avantajul că scurtează mult timpul de tratare. Picarea fiind mai ușor de realizat decît imersia tulpinițelor, poate prezenta interes pentru rășinoase și ulm. Iradierea prealabilă, ca și iluminarea suplimentară pot să aibă unele efecte favorabile, dar nu reprezintă condiții esențiale.

— Procentul de menținere (supraviețuire) a puietilor rezultați din material colchicinizat este neuniform în cadrul speciei și diferă de la o specie la alta. Este în general ridicat la salcîm, stejar, molid, ceva mai mic la ulm și foarte mic la larice. Nu pare să prezinte o legătură directă cu materialul tratat sau concentrația soluției.

— Vigoarea de creștere la puietii colchicinizați, apreciată prin elemente dimensionale, nu prezintă variații importante în comparație cu martorul decît în primul și cel mult al doilea an. De altfel, aspectul nu prezintă importanță pînă la confirmarea poliploizilor.

— În urma analizelor fiziologice și biochimice rezultă că efectul colchicinei se resimte nu numai la nivelul diviziunilor celulare, unde i se atribuie un rol oarecum limitat, ci și la nivelul echipamentului enzimatic, al acizilor nucleici și al principalelor funcțiuni ale organismului vegetal. Este de reținut efectul remanent al colchicinizării.

— În loturile de material colchicinizat s-au identificat o serie de poliploizi și mixoploizi (menționîndu-se că nu au fost analizați toți puietii). Este obligatorie verificarea lor în perioada de maturație, la nivelul celulelor reproducătoare.

BIBLIOGRAFIE

1. Bourdeau, Ph. F., Mergen, F., 1959 : — Photosynthesis and Respiration in Colchicine-Induced Polyploid Seedlings of Slash Pine. *J. For.* vol. 57, nr. 3, 191—193.
2. Breslavec, L. P., 1963 : — Poliploidia v prirade i opite. Moscova.
3. Cristea, S., 1970 : — Inducerea poliploidiei la porumb. Studiul materialului în C_0 — Probleme de genetică teoretică și aplicativă, vol. II, nr. 2.
4. Derman, H., C. May, 1966 : — Colchicopolyoidy of *Ulmus pumila* and its possible use in hybridization with *U. american*, *Forest Sci.* 12, 2, 140—146.
5. Dubinin, H. P., 1969 : — Natural chromosome mutations in diploid and tetraploid cells of *Crepis capillaris*. *Lucrările celui de-al doilea Simpozion Național de Genetică. București.*
6. Dumitrescu, N., Raicu, P., 1969 : — Studiu spectrofotometric comparativ al unor proteine de la amfiploidii de tip Triticale. *Lucrările celui de-al doilea Simpozion Național de Genetică. București.*
7. Einspehr, D. W., 1965 : — Colchicine treatment of newly formed embryos of quaking aspen. *Forest Sci.* 11, 456—459.
8. Hagber, A., Akeberg, E., 1962 : — Mutations and polyploid in plant breeding *Svenska Bokförlager, Stockholm.*
9. Illies, Z. H., 1966 : — Die Variation unbalanzierter Chromosomenzahlen im Knospeneristem fünf aufeinander folgender Astjahrgänge bei aneuploiden C_1 -Lärchen, *Silvae Genetica* 15, Heft 4.
10. Illies, Z. M., 1966 : — The development of aneuploidy in somatic cells of experimentally produced triploid larches. *Heredity* vol. 21, part. 3.
11. Karhl-Urban, J., 1958 : — Versuche zur Bewurzelung von Eichen und Buchenstecklingen. *Silvae genetica* 7, Heft 2.
12. Kopecky, F., 1966 : — Importance of induced poplar and robinia poliploids in breeding of fast growing tree-species. *IUFRO Section — 22 — Hungary sept. 1966.*
13. Koslowski, T. T., 1963 : — Physiological implications in tree improvement. *World Consultation on Forest Genetics and Tree Improvement Stockholm, 1963.*
14. Kyong, Bin, Yim, 1963 : — Sensitivity of pine seed to neutron gamma and x ray irradiation. *Proceedings of the world consultation on forest genetics and tree improvement, Stockholm.*
15. Gustafsson, A., Mergen, F., 1964 : — Quelques principes de cytologie et de genétique des arbres. *Unasylva*, vol. 18 (2—3), nr. 73—74, 7—20.
16. Geitler, Lotar, 1942 : — Schenlimethoden der Korn- und Chromosomenuntersuchung. *Berlin-Zehlendorf.*
17. Lester, T. D., 1970 : — An Attempt to Induce Polyhaploidy in American Elm. *Forest Science* 16 (2).
18. Lazanyi, A., Zeri, A., Veres, St., 1969 : — Studiul comparativ al soiurilor diploide și triploide la măr. *Lucrările celui de-al doilea Simpozion Național de Genetică, București.*
19. Mergen, F., 1958 : — Natural Polyploidy in Slash Pinus. *For. Science*, vol. 4, nr. 4, 283—295.
20. Mergen, F., 1959 : — Colchicine-Induced Polyploidy in Pines *J. For.* vol. 57, nr. 3, 180—190.
21. Mergen, F., Lester, D. T., 1961 : — Colchicine-Induced Polyploidy in *Abies* *Forest Sci.* 7, 4, 314—319.
22. Mergen, F., 1963 : — Evaluation of spontaneous, chemical, and radiation induced mutations in Pinaceae. *World Consultation on Forest, Genetics and Tree Improvement — Stockholm.*
23. Müntzig, A., 1969 : — Polyploidy. *Cercetări de genetică. București.*

24. Mirza, V., Niculescu, M., Dobrescu, S., 1969: — Mecanismele poliploidizării în condiții normale și patologice. Lucrările celui de-al doilea Simpozion Național de Genetică. București.
25. Nicota, B., Maric, B., 1965: — The achievements of forest genetics and selection in Jugoslavia IUFRO, Sp. Meet. and Exc. in Jugoslavia, Zagreb.
26. Ocskay, S., Clonaru, Al., Milea, Gh. I., 1971: — Cercetări referitoare la ameliorarea plopilor și sălcilor de interes economic. I.C.S.P.S.
27. Pederick, L. A., 1967: — The Structure and Identification of the Chromosomes of *Pinus radiata* D. Don *Silvae Genetica* 16, Heft 2, pag. 69—77.
28. Raicu, P., Popescu, C., 1969: — Autotetraploizi artificiali la *Raphanus sativus* și studiul lor citogenetic, Lucrările celui de-al doilea Simpozion Național de Genetică, București.
29. Simak, M., Happel, C., 1966: — Vorbehandlung der Koniferensamen für Chromosomenuntersuchungen, *Silvae Genetica* 15, Heft, 2, 38—41.
30. Sin-Kyn Hyun, Chung-Suk, Kim, 1963: — Some characteristics of autotetraploids of trees species induced by colchicine treatment. Proceedings of the World Consultation on Forest genetics and Tree Improvement-Stockholm.
31. Squillace, A. E., 1970: — Development and action programmes for forest tree improvement. *Unasylva*, vol. 24.
32. Schreiner, E. J., 1970: — Tree breeding in United States forestry practice *Unasylva*, vol. 24.
33. Smillie, R. M., Krotkov, G., 1960: — The estimation of nucleic acids in some algae and higher plants. *Canad. J. Bot.* 38; pag. 31—49.
34. Vidakovic, M., 1970: — The role of genetics and tree improvement in silviculture. IUFRO Meeting Ljubljana 30—9—7. 10, 1970.
35. Winton, L. L., Enspahr, D. W., 1968: — The Use of Heat-Treated Pollen for Aspen Haploid Production *Forest Science* 14 (4).
36. Winton, L., Enspahr, D. W., 1970: — Tetraploid Aspen Production Unreduced Triploid Pollen. *Forest Science* 16 (2).
37. Winton, L. L., 1966: — Cytotechniques for spruce chromosomes. *Minn. For. Notes*, nr. 146, 1964, *Silvae Genetica* 15—1966, pag. 30. Heft 1.

POLYPLOIDY INDUCTION AT SOME FOREST SPECIES

CONTENTS

Introduction
Materials and Methods
Results
Oak
Acacia
Elm
Spruce
Larch
Conclusions

Summary

To induce polyploidy to oak, acacia, elm, spruce and larch we applied treatments with colchicine of different concentrations and under various conditions, combined sometimes with X-rays. As biological material we utilized seeds, germinated seeds, plants, cuttings, flowers, growing fruits, mature trees, totalizing 804 variants.

We observed the treated material and determined the morphological changes, maintenance in culture and the increments obtained and made by investigations — cytological, physiological, biochemical and histochemical verifications.

We planted the seedlings obtained by treatment at Snagov-Vlășia and Ștefănești near by Bucharest. The material is still under observation, polyploids attestation is to be made after flowering.

Oak proved to be a robust species, suited to colchicine treatment, showing morphological and growth modifications that often disappear with time (observation true also for the other species we work with). In the treated zones, appeared frequently cells with a double number of chromosomes. The most efficient method was the vacuum infiltration of germinated acorn with a 0,5 to 0,8 per cent solution.

Acacia has a much lower success and a lower vigour. The most efficacious applied treatments were in plantlets, by complete or partial immersion in 0,1—0,4 per cent solutions, at low pressure for 4 to 6 hours, or in seeds by immersion in 0,4% solution for 48 hours. The modifications of a cytological or biochemical nature indicated a deeper effect than in the case of cutting treatment which would use more easier to carry out and with a higher efficiency.

The elm, less studied, rises no problems when treating the plants terminal buds with 0,5—1,0% colchicine.

Spruce had an ununiform success, but generally higher for a resinous species (10 per cent). Good results were obtained by immersing the seed in solution with concentrations to 1,0%, for 48 to 72 hours, or by plant aerial part immersion in 0,4% solution.

Larch was treated the same as spruce. Morphological and cytological modifications were the same, but larch success was much lower. It is recommended the treating of terminal shoots.

The analyses and observations made showed the morphological, cytological, physiological and biochemical modifications in the vegetal organism, caused by colchicine, and the remanent character of colchicine treatment.

Irradiations seemed to have, under certain conditions, a stimulating effect on growth.

INDUKTION DER POLYPLOIDIE BEI EINIGEN HOLZARTEN

INHALTSVERZEICHNIS

Einleitung
Arbeitsmaterial und Arbeitsmethode
Ergebnisse
Eiche
Robinie
Ulme
Fichte
Lärche
Schlussfolgerungen

— Zusammenfassung —

Zwecks Induktion der Polyploidie bei der Eiche, Robinie, Ulme, Fichte und Lärche wurden Behandlungen mit Cholkycin in verschiedenen Konzentrationen und unter manchmal mit X Strahlen kombinierten Bedingungen angewandt. Als biologisches Material wurde Saatgut, gekeimtes Saatgut, Keimpflanzen, Stecklinge, Blumen, Früchte in der Entwicklungsperiode, ausgewachsene Bäume benützt, die im ganzem 804 Varianten betrogen.

Was das behandelte Material anbelangt wurden im bezug auf die morphologischen Veränderungen, auf das Erhalten in den Kulturen und auf den realisierten Zuwachs Beobachtungen gemacht und Festlegungen getroffen. Ausserdem

wurden durch Stichproben cytologische, physiologische, biochemische und histologische Kontrollen durchgeführt.

Mit den aus den Behandlungen erhaltenen Forstpflanzen wurden Kulturen in Snagov-Vlășia und Ștefănești —, neben Bukarest, gegründet. Das Pflanzenmaterial blieb auch weiter unter Beobachtung, wobei das Attestieren der Polyploiden erst nach dem Blühen erfolgt.

Die Eiche hat sich als eine für die Behandlung mit Cholkycin geeignete Holzart erwiesen. Sie weist morphologische und Zuwachsänderungen auf, welche nach einer Zeit meistens verschwinden (diese Beobachtung gilt auch für die anderen untersuchten Holzarten). In den behandelten Teilen wurden häufig Zellen mit doppelter Anzahl von Chromosomen festgestellt. Als wirksamste Methode erwies sich die Vakuum-Infiltration bei der kegeimten Eichel, während einer Dauer von 5 Stunden mit einer Lösung von 0,5 bis 0,8 $\frac{1}{2}$ ‰.

Bei der Robinie wurde ein viel schwächerer Erfolg und eine geringere Vitalität festgestellt. Die wirksamsten Behandlungen waren bei den Forstpflanzen durch das totale oder teilweise Eintauchen der Keimpflanze 4...6 Stunden lang in eine Lösung von 0,1—0,4‰ unter schwachem Druck, oder durch Eintauchen des Saatgutes 48 Stunden lang in eine Lösung von 0,4‰. Die Veränderungen cytologischer und biochemischer Natur haben eine gründlichere Wirkung gezeigt als bei der Stecklingsbehandlung, die leichter und mit grösserem Erfolg zu durchführen wäre.

Die weniger untersuchte Ulme stellt keine Probleme bei der Behandlung der Keimpflanzenspitze mit 0,5 bis 1,5‰ Cholkycin.

Bei der Fichte zeigte sich ein ungleichmässiger Erfolg jedoch höher als der Durchschnitt bei den Nadelarten (10‰). Gute Erfolge wurden mittels Eintauchen des Saatgutes 48 bis 78 Stunden lang in eine 10‰-ige Lösung, oder durch Eintauchen des oberirdischen Teils der Keimpflanze (im Boden 0,4‰) erzielt.

Die Lärche wurde wie die Fichte behandelt. Die morphologischen und cytologischen Veränderungen waren die gleichen, aber das Ergebnis war viel schwächer. Es wird empfohlen, die Zuwachsgipfeln zu behandeln.

Die durchgeführten Analysen und Beobachtungen haben die morphologischen, cytologischen, physiologischen, biochemischen Veränderungen, die durch das Cholkycin im Pflanzenkörper wie auch durch die Remanenz der Cholkycinisierung verursacht worden sind, hervorgehoben.

Die Bestrahlungen scheinen unter bestimmten Bedingungen eine zuwachs-fördernde Wirkung zu haben.

ПОЛУЧЕНИЕ ПОЛИПЛОИДИИ У НЕКОТОРЫХ ЛЕСНЫХ ПОРОД

СО Д Е Р Ж А Н И Е

В в е д е н и е .
Материал и метод
Результаты
Дуб
Акация
Берест
Ель
Лиственница
Выводы

Р е з ю м е

Ввиду получения полиплоидии у дуба, акации, береста и лиственницы были проведены обработки колхицином в различных растворах и условиях, иногда в комбинации с лучами X. В качестве биологического материала были использованы обыкновенные семена, наклонувшиеся семена, всходы, черенки, цветы, фрукты в период их роста, взрослые деревья, всего 804 вариантов.

В связи с обработанным материалом были сделаны наблюдения и определения относительно морфологических изменений, сохранности в культурах и их роста, а также путем зондирований-цитологические, физиологические, биохимические и гистохимические проверки.

Обработанные семена были высажены в Снагове-Власия и в Штефанешть вблизи, Бухареста. Материал находится под наблюдением, а аттестация полиплоидов будет проведена после цветения.

Дуб переносит хорошо обработку колхицином, которая дает изменения в росте и морфологии, и которые чаще всего постепенно исчезают/наблюдение действительно и для остальных исследуемых пород/. На обработанных частях часто выделялись клетки с двойным числом хромосомов. Самым эффективным методом оказался метод вакуума-инфильтрации, у наклонувшихся желудей в течение 5 часов в растворе 0,5—0,8%.

Приживаемость и жизнеспособность белой акации были более низкими. Самыми эффективными были обработки всходов путем тотального или частичного их погружения в растворы 0,1—0,4% при низком давлении в течение 4—6 часов, или семян путем погружения на 48 часов в раствор 0,4%. Изменения цитологического или биохимического характера у всходов и семян указывают на более глубокий эффект чем при обработке черенков, которые можно было бы легче реализовать и с большей производительностью.

Берест, порода менее изучена, не представляет затруднений при обработке колхицином 0,5—1,0% верхушек роста всходов.

Приживаемость ели была неоднородной, в среднем все-таки довольно высокая для хвойных /10%/. Хорошие результаты были получены при погружении семян в растворы с концентрацией до 1,0% в течение 48—72 часов, или надземной части всхода/раствор 0,4%.

Лиственница обрабатывалась также как и ель. Морфологические и цитологические изменения были такими же, но приживаемость на много ниже. Рекомендуется обработка верхушек роста.

Проведенные анализы и наблюдения выявили морфологические, цитологические, физиологические и биохимические изменения вызванные колхицином в растительном организме, а также продолжительную эффективность обработки колхицином.

Предполагается, что ирадиации, в определенных условиях, могут иметь стимулирующий эффект на рост.