

## VARIAȚIA POTENȚIALULUI REDOX ÎN FRUNZELE STEJARULUI PEDUNCULAT: O ANALIZĂ A REACTIVITĂȚII OXIDATIVE ADAPTIVE

Zdioruk Nina<sup>1,\*</sup>, <https://orcid.org/0009-0000-8879-3954>

Cuza Petru<sup>2</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-0192-4427>

Nicolai Platovschii<sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0001-6747-8226>

<sup>1</sup>*Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, USM, Chișinău, Republica Moldova*

<sup>2</sup>*Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova*

\*e-mail: [nina.zdioruk@sti.usm.md](mailto:nina.zdioruk@sti.usm.md)

**Summary.** The study examined the overall activity of antioxidants, oxidases, and catalases in leaf extracts of pedunculate oak (*Quercus robur*) trees from different ecological zones (northern, central, and southern) of the Republic of Moldova. Results showed that antioxidant activity varies based on thermal dosage, recovery period, and ecological conditions. In the northern zone, overall antioxidant and oxidase activity was initially high after heat shock but decreased over time, whereas catalase activity remained consistently high. This suggests that northern pedunculate oaks have significant adaptive mechanisms to mitigate oxidative stress.

**Keywords:** *Quercus robur* L., leaves, thermal shock, antioxidant substances, oxidases, catalases, adaptation.

### Introducere

Stejarul pedunculat (*Quercus robur* L.) este un arbore din zona temperată, larg răspândit în Europa, cu lemn valoros, care se utilizează pe scară largă în industria forestieră. Este cunoscut pentru rezistența și capacitatea de a atinge vârste remarcabile, în unele cazuri de până la 800 de ani. Importanța sa ecologică este considerabilă, deoarece servește drept habitat pentru numeroase specii de plante și animale și contribuie la menținerea echilibrului în ecosistemele forestiere (Ducousso & Bordacs, 2004).

Având în vedere importanța sa ecologică și faptul că în ultimele decenii, în habitatul său nativ, s-au intensificat și au devenit mai frecvente valurile de căldură asociate cu secetele persistente, stejarul pedunculat, o specie mezotermă și mezofilă, este afectat de temperaturile caniculare și de insuficiența de precipitații. Potrivit unor studii, mai multe arborete de stejar pedunculat prezintă o vitalitate scăzută și se află în proces de uscare (Cuza, 2017). Cercetările recente s-au concentrat pe investigarea toleranței stejarului pedunculat la efectele temperaturilor ridicate, utilizând metode care evaluează starea fiziologică a arborilor prin analiza activității compușilor enzimatici și non-enzimatici ca răspuns la disfuncțiile celulare generate de stresul oxidativ (Kebert et al., 2022). Aceste eforturi de cercetare sunt esențiale pentru înțelegerea și gestionarea adaptării populațiilor speciei în diverse habitate în fața amenințărilor generate de schimbările climatice în curs.

În literatura de specialitate, creșterea temperaturii, de obicei cu 10-15°C peste cea ambiantă, este considerată șoc termic sau stres termic (Wahid et al., 2007). Capacitatea de a rezista la stresul generat de temperaturile ridicate este specifică pentru fiecare specie și poate fi observată până la momentul în care temperatura atinge un prag critic. Cu toate acestea, poate fi tolerată până la depășirea acestuia, pentru o perioadă de timp suficientă, fără a provoca daune ireversibile creșterii și dezvoltării plantelor (Wahid et al., 2007). O temperatură de prag se referă la o valoare a temperaturii medii zilnice la care începe o reducere detectabilă a creșterii. În identificarea pragurilor pentru stresul termic, trebuie luate în considerare toleranța la căldură și adaptarea termică a unei specii (Kaspari et al., 2015).

Creșterea și dezvoltarea plantelor implică un număr complex de reacții biochimice, toate fiind sensibile într-o oarecare măsură la temperatură. Depășirea acestora peste un anumit prag poate duce la ieșirea de sub control a speciilor reactive ale oxigenului și provocarea daunelor determinate de stresul oxidativ. Prin urmare, răspunsurile plantei la șocul termic variază în funcție de amploarea creșterii temperaturii, durata acesteia și specia de plantă.

Sporirea toleranței la stresul termic este adesea asociată cu activitățile enzimelor implicate în sistemele antioxidante ale plantelor, cum ar fi superoxid dismutaza, peroxidazele, oxidazele și catalazele. Plantele expuse la temperaturi extreme utilizează o gamă mai largă de antioxidanți, fie enzimatici, fie non-enzimatici, pentru a atenua efectele nocive ale stresului oxidativ. Mai multe studii au demonstrat că activitățile crescute ale enzimelor de apărare antioxidante sunt corelate cu o toleranță mai mare la stres, determinând astfel adaptarea plantelor (Lovreškov et al., 2022).

În studiul de față, ne-am propus să evaluăm activitatea totală a substanțelor antioxidante, a oxidazelor și a catalazelor în extractele din frunzele arborilor de stejar pedunculat care cresc în diferite zone ecologice din Republica Moldova, după diferite perioade de timp de la aplicarea șocului termic, pentru a evalua reacția lor specifică la stres în funcție de doza termică, perioada de recuperare și condițiile de mediu în care se dezvoltă arborii de stejar pedunculat.

### Material și metode

Probele de frunze au fost prelevate din trei populații de stejar pedunculat care se dezvoltă în condiții ecologice diferite ale Ocoalelor Silvice: Filimon Carcea (zona de nord), Călărași (zona de centru) și Cociulia (zona de sud) din Republica Moldova. În laborator, frunzele au fost supuse unui șoc termic la o temperatură de 50°C, pentru perioade de timp de 20, 40 și 60 de minute.

După aplicarea șocului termic, frunzele au fost păstrate în exsiccatoare, unde li s-au asigurat condiții controlate. În prima, a treia și a cincea zi după șoc, au fost extrase probe de frunze pentru a efectua analiza biochimică, în scopul determinării activității sumare a substanțelor antioxidante, a oxidazelor și catalazelor, conform metodei elaborate de Al. Dascalu (2018). Metoda aplicată constă în macerarea la rece a probelor de frunze, cu o greutate aproximativă de 0,1 g. Materialul rezultat a fost extras timp de 30 de minute, la temperatura de 25°C, într-o soluție tampon conținând 0,2 M Tris, la un pH de 7. Ulterior, extractul obținut a fost centrifugat timp de 15 minute la 4000 g. A fost apoi măsurată dinamica diminuării conținutului de oxigen în soluțiile experimentale în comparație cu soluția martor (care conținea doar 1,6 ml de soluție tampon), utilizându-se un oximetru YSI (SUA). La 15 minute de la începerea incubării la temperatura de 25°C, conținutul de oxigen în soluție a atins faza staționară, moment în care procentul de oxigen consumat devenea egal cu cel ce pătrundea în soluție prin procesul de difuziune.

### Rezultate și discuții

Datele prezentate în Figura 1a, b și c evidențiază că, într-o perioadă de 5 zile de recuperare de la șocul termic, procesele de legare a oxigenului în extractele din frunzele de stejar pedunculat au evoluat diferit în ceea ce privește activitatea sumară a substanțelor antioxidante și oxidazelor, comparativ cu activitatea catalazei.

**În zona de nord**, activitatea sumară a substanțelor antioxidante și cea a oxidazelor sunt comparabile și ridicate în prima zi de la aplicarea șocului termic, sporind odată cu prelungirea perioadei de expunere a acestuia. Activitatea acestor substanțe este semnificativ mai mare decât în proba martor, ceea ce indică o sensibilitate înaltă a stejarilor la stresul termic. Totodată, în extractele frunzelor, activitatea catalazelor este înaltă (mai sporită decât cea a substanțelor antioxidante și oxidazelor), însă, indiferent de durata expunerii la șoc, este mai scăzută decât în proba martor. Această observație indică că procesele de recuperare avansează la nivelul catalazelor, în timp ce la substanțele antioxidante și oxidaze se prezintă o activitate sporită, în comparație cu proba martor.

După trei și cinci zile de la șoc, a fost evidentă o tendință de diminuare a activității sumare a substanțelor antioxidante și oxidazelor, ajungând la un nivel similar ca și în proba martor,

prezentând valori mai reduse comparativ cu prima zi post-șoc. Dimpotrivă, activitatea catalazelor a crescut după 20 și 40 de minute de șoc, fiind după cinci zile comparabilă cu proba martor.

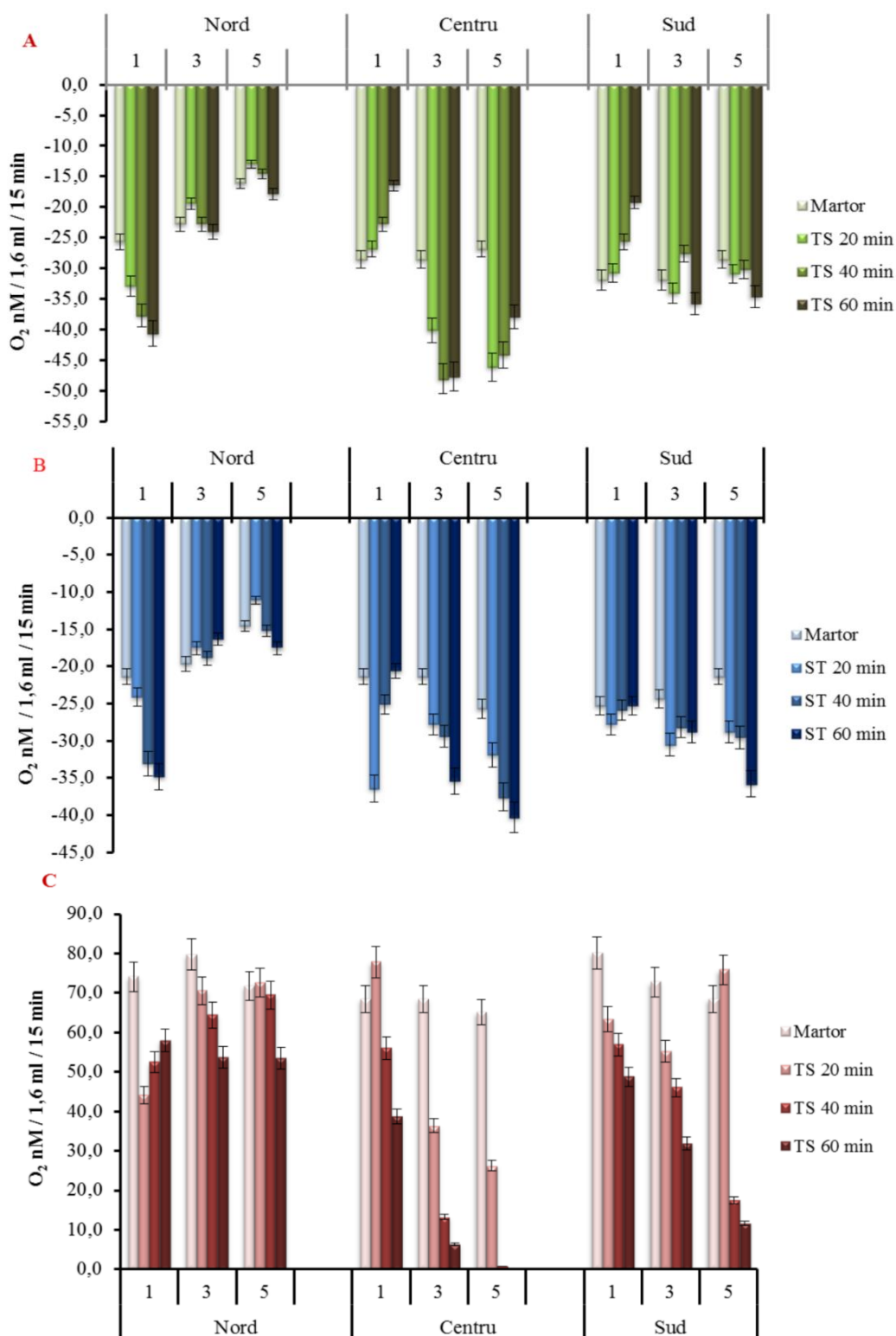


**Figura 1. Dinamica schimbării activității substanțelor antioxidanțe (A), a oxidazelor (B) și catalazelor (C) în extractele frunzelor de stejar pedunculat, expuse șocului termic la temperatura de 50°C pentru perioade de 20, 40 și 60 de minute. Recuperarea activității componentelor antioxidante a fost evaluată în următoarele perioade de timp: 1 – prima zi, 3 – a treia zi, 5 – a cincea zi după aplicarea șocului termic**

Datele obținute indică faptul că în luna iulie, la arborii de stejar pedunculat care cresc în zona de nord, substanțele antioxidante joacă un rol important în atenuarea speciilor reactive ale oxigenului, care se formează ca urmare a șocului termic aplicat frunzelor. Cu toate acestea, transformările observate depind de ritmul activității acestor substanțe. Se remarcă o activitate înaltă a catalazelor, sugerând o activitate sporită a proceselor metabolice de anihilare a speciilor reactive ale oxigenului. Rezultatele obținute indică că arborii de stejar pedunculat din zona de nord par să manifeste un răspuns complex la stresul termic, implicând interacțiuni specifice între substanțele antioxidante și enzimele antioxidante, precum catalazele, pentru a atenua efectele negative ale acestuia și pentru a-și consolida termotoleranța.

**În zona de centru,** analiza activității sumare a substanțelor antioxidante, a oxidazelor și catalazelor în extractele frunzelor arborilor de stejar pedunculat după prima zi a șocului termic relevă o clară tendință de diminuare. Această tendință este observată în concordanță cu creșterea perioadei de expunere la șocul termic și, în același timp, activitatea devine mai mică decât în proba martor, odată cu prelungirea duratei șocului termic. Aceste constatări indică că expunerea la șocul termic generează procese de recuperare în rândul substanțelor antioxidante. În a treia și a cincea zi după expunerea la șocul termic, activitatea sumară a substanțelor antioxidante și a oxidazelor a înregistrat o creștere, în timp ce activitatea probei martor a fost semnificativ mai scăzută. Se observă astfel procesele de adaptare a arborilor la stresul termic, activând mecanismele de apărare antioxidantă pentru a atenua efectele șocului termic. Activitatea catalazei a prezentat o altă tendință, diminuându-se considerabil pe întreaga perioadă de după șoc, odată cu creșterea duratei expunerii la șocul termic. Aceste schimbări sugerează că sistemul enzimatic al arborilor de stejar pedunculat suferă schimbări complexe în răspunsul său la stresul termic, iar activitatea catalazei poate fi afectată diferit față de alte enzime antioxidante.

**În zona de sud,** s-a observat o activitate ridicată și relativ constantă a substanțelor antioxidante și a oxidazelor, ceea ce demonstrează că mecanismele antioxidante ale stejarilor din această zonă sunt active și eficiente în gestionarea stresului termic. De asemenea, analiza activității antioxidante sumare și a oxidazelor în timpul perioadei de recuperare, după trei și cinci zile, a relevat o creștere evidentă în comparație cu extractele din frunzele probei martor. Acest fapt sugerează că expunerea la șocul termic stimulează activitatea acestor substanțe antioxidante ca răspuns la șocul termic, demonstrând capacitatea arborilor de a-și mobiliza mecanismele de apărare pentru a atenua efectele negative ale șocului termic. Activitatea catalazelor a înregistrat o scădere odată cu prelungirea perioadei de recuperare după expunerea la șoc, indicând astfel o reglare specifică a acestor enzime în răspunsul arborilor la stresul termic din zona de sud. În final, arborii de stejar pedunculat din zona de sud par să se adapteze la stresul termic, având mecanisme antioxidante eficiente pentru a face față acestuia, dar și o reglare specifică a activității catalazelor în timpul perioadei de recuperare.

Evaluarea activității substanțelor antioxidante în diferite zone ecologice s-a făcut în comparație cu cea din proba martor. De regulă, au fost observate tendințe opuse în activitatea sumară a substanțelor antioxidante și a oxidazelor față de cea caracteristică catalazelor. La substanțele antioxidante și la oxidaze, a fost observată o activitate semnificativ mai mare în extractele frunzelor expuse la șocul termic decât în proba martor, pe parcursul întregii perioade de recuperare de cinci zile. Aceasta înseamnă că șocul termic a generat reacții puternice de răspuns din partea acestor substanțe, activând mecanisme de protecție pentru a atenua daunele provocate de speciile reactive ale oxigenului și pentru a menține funcțiile celulare. În cazul catalazelor, dimpotrivă, activitatea acestora în extractele frunzelor supuse șocului termic a fost ridicată, cu o diminuare semnificativă după trei și cinci zile de recuperare, odată cu sporirea dozei termice, în comparație cu cea din proba martor. Se pare că tendințele opuse observate între activitatea sumară a substanțelor antioxidante și a oxidazelor față de cea a catalazelor sunt rezultatul unor mecanisme complexe de răspuns la stres, unde diferite componente ale sistemului antioxidant sunt reglate

diferit pentru a proteja eficient celulele împotriva daunelor provocate de stresul termic, la „costuri” energetice optime.

Pe baza rezultatelor prezentate, evaluate pe baza probelor de frunze prelevate din spațiul de răspândire a trei populații naturale care se dezvoltă în condiții de mediu diferite, se poate observa că, în comparație cu alte zone ecologice, procesele de adaptare a arborilor de stejar pedunculat sunt evidente în zona de nord a Republicii Moldova. În această zonă, se remarcă o activitate semnificativă a substanțelor antioxidante și a oxidazelor în prima zi de recuperare după șocul termic, sugestivă pentru o reacție puternică a stejarilor la stresul termic. De asemenea, activitatea catalazelor este ridicată pe întreaga perioadă de recuperare, indicând o intensificare a proceselor metabolice de anihilare a speciilor reactive ale oxigenului. Aceste constatări sugerează o adaptare eficientă a arborilor de stejar pedunculat din zona de nord la stresul termic, prin mobilizarea mecanismelor antioxidante pentru a atenua efectele negative ale acestuia și pentru a-și consolida termotoleranța.

Este evident că activitatea sumară a substanțelor antioxidante, a oxidazelor și catalazelor în extractele din frunzele stejarului pedunculat, după aplicarea șocului termic, este mai ridicată atunci când procesul de recuperare decurge mai eficient în zona de nord a Republicii Moldova. Acest proces se bazează pe unele studii care subliniază că activitatea oxidazelor constă în furnizarea surselor de energie necesare pentru funcționarea celulelor și este completată de activitatea oxidazelor responsabile pentru menținerea sub control a speciilor reactive ale oxigenului în lanțul mitocondrial de transport a electronilor generat de factorii de stres (Finnegan et al., 2004). Această interpretare indică o relație între activitatea enzimatică și procesul de recuperare a celulelor, oferind o explicație coerentă a rezultatelor prezentate în studiul nostru.

Un studiu relevant asupra speciilor lemnoase, realizat de L. Lovreškov et al. (2022) în pădurile din Croația, a investigat reacția activității catalazei în frunze ca urmare a acțiunii stresului natural cauzat de secetă și temperaturi caniculare. Conform rezultatelor raportate, s-au observat diferențe semnificative în activitatea catalazei între arborii cu coroane defoliate (defolieri > 25%) și cei cu coroane înfrunzite (defolieri ≤ 25%). În mod special, s-a constatat o activitate crescută a catalazei în frunze la speciile *Quercus ilex* și *Pinus halepensis*, în timp ce aceasta a fost mai redusă în cazul speciilor *Quercus pubescens* și *Pinus nigra*, care cresc în habitate naturale. Aceste analize ale activității catalazei ca răspuns la stresul termic natural denotă că speciile investigate adoptă mecanisme de protecție specifice pentru a face față stresului termic natural și dezvoltă strategii diverse pentru a-și proteja integritatea celulară. Autorii au propus că activitatea catalazei ar putea fi un indicator biologic utilizat pentru predicția stării fiziologice a plantelor evaluate în funcție de amploarea stresului oxidativ înainte de apariția unor leziuni și uscări vizibile la arbori.

### Concluzii

Studiul a evaluat variabilitatea activității sumare a substanțelor antioxidante, a oxidazelor și a catalazelor în frunzele stejarului pedunculat, având în vedere doza termică aplicată, perioada de recuperare după șoc și condițiile ecologice în care cresc arborii. În zona de nord, activitatea sumară a substanțelor antioxidante și a oxidazelor a fost ridicată în prima zi post-șoc, urmând să scadă ulterior. În schimb, activitatea catalazelor a fost inițial crescută și a continuat să sporească în perioada de recuperare. În zona de centru, activitatea substanțelor antioxidante și a oxidazelor a crescut pe durata perioadei de recuperare, în timp ce activitatea catalazelor a scăzut odată cu prelungirea duratei șocului termic. În zona de sud, activitatea substanțelor antioxidante și a oxidazelor a fost moderată și constantă, pe când activitatea catalazelor a scăzut pe măsură ce durata șocului termic a crescut. Aceste rezultate indică o adaptare eficientă a arborilor de stejar pedunculat din zona de nord la stresul termic, prin mobilizarea mecanismelor antioxidante pentru a atenua efectele stresului oxidativ și a le consolida termotoleranța.

### Referințe

1. Dascaluic A., Cuza P., Florență Gh. Potențialul redox al extractelor din mugurii arborilor stejarului pedunculat, gorunului și stejarului pufos în funcție de anotimp. *Revista pădurilor*, 2018, 133(4): 21-36.
2. Ducousso A., Bordacs S. Technical guideline for conservation and use for pendunculate and sessile oaks. – *Quercus robur* and *Quercus petraea*, 2004, EUFORGEN.
3. Cuza P. Instalarea și menținerea speciilor de stejar (aspecte teoretice și practice). Chișinău: F.E.-P Tipografia centrală, 2017. 256 p.
4. Finnegan P. M., Soole K. L., Umbach A. L. Alternative mitochondrial electron transport proteins in plants. *Plant Mitochondria: From Genome to Function* (eds D.A. Day, A.H. Millar & J. Whelan), 2004, p.163-230. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
5. Kaspari M., Clay N. A., Lucas J., Yanoviak S. P., Kay A. Thermal Adaptation Generates a Diversity of Thermal Limits in a Rainforest Ant Community. *Glob. Chang. Biol.*, 2015, 21: 1092-1102.
6. Kebert M., Vuksanovi V., Stefels J., Bojovi M., Horák R., Kosti S., Kovaevi B., Orlovi S., Neri L., Magli M., Rapparini F. Species-level differences in osmoprotectants and antioxidants contribute to stress tolerance of *Quercus robur* L., and *Q. cerris* L. seedlings under water deficit and high temperatures. *Plants*, 2022, 11(13): 1744.
7. Lovreškov L., Redovniković I. R., Limić I., Potočić N., Seletković I., Marušić M., Tušek J A., Jakovljević T., Butorac L. Are foliar nutrition status and indicators of oxidative stress associated with tree defoliation of four Mediterranean forest species? *Plants*, 2022, 11(24): 3484.
8. Wahid A., Gelani S., Ashraf M., Foolad M. R. Heat tolerance in plants: An overview. *Environmental and Experimental Botany*, 2007, 61(3): 199-223.