

---

TEZĂ DE DOCTORAT

# **Variabilitatea comportării unor genotipuri de prun față de atacul principalelor boli**

**(REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT)**

---

Doctorand: **Ioana MITRE**

---

Conducător de doctorat: **Prof. univ. dr. Radu E. SESTRĂȘ**

---



## REZUMAT

Prunul este specia pomicolă dominantă în țara noastră și ca urmare constituie un subiect important al cercetărilor științifice în domeniu, fiind reprezentat printr-o mare diversitate genetică, ce trebuie monitorizată, analizată și evaluată. Crearea de noi soiuri se bazează tocmai pe această resursă genetică valoroasă, considerată un rezervor indispensabil de gene care trebuie să fie eficient valorificat.

Prunul este o specie relativ sensibilă la atacul de boli, existând numeroși agenți patogeni care pot provoca pagube considerabile în cultură, sau deprecia calitatea fructelor. Pagubele cele mai însemnate, identificate în câmpul experimental sunt cauzate de virusuri: *Plum pox* (numit și 'vărsatul prunului', sau '*Sharka*'), piticirea prunului (*Prun dwarf*) pătarea inelară necrotică (*Prunus Ring Spot*), declinul prunului (*Plum decline*), mozaicul liniar (*Plum pseudopox*), și de bacterii, în special pătarea și ciuruirea bacteriană a frunzelor de prun (*Xanthomonas campestris pv. pruni* (Smith) Dye) etc. Printre bolile provocate de fungi frecvent întâlnite în arealul studiat, au fost: *Polystigma rubrum*, *Monilinia laxa*, *Taphrina pruni*, *Coryneum beijerinckii*, *Tranzschelia pruni-spinosae* și *Stygmia carpophila*.

Există mai multe obiective urmărite în ameliorarea prunului, însă creșterea rezistenței la atacul de boli și dăunători rămâne un obiectiv extrem de important. Bolile cauzate de ciuperci, chiar dacă par mai ușor de combătut sau controlat, pot crea probleme grave și pierderi majore din punct de vedere economic pentru cultivatori. Controlul sau monitorizarea acestor boli conduc la costuri de producție ridicate, iar în unele cazuri, ineficacitatea tratamentelor fitosanitare se reflectă prin diminuarea semnificativă a calității fructelor. Prin urmare, cercetările în direcția obținerii unor cultivari rezistente și a introducerii lor în cultură rămân deziderate de maximă importanță la prun. Aceste considerente au stat la baza alegerii temei pentru teza de doctorat.

Experimentele privind biodiversitatea genetică și fenotipică a unor cultivari de prun, respectiv studiile variabilității comportării unor genotipuri de prun față de atacul principalelor boli s-au desfășurat într-o plantație comercială din Călăcea, județul Sălaj. În ultimii zece ani, această plantație practic nu a fost întreținută, prin urmare nu a beneficiat de protecție fitosanitară, iar evaluarea privind răspunsul la boli s-a efectuat în condițiile unei presiuni de infecție foarte ridicat de atac.

Intensitatea și frecvența atacului agenților patogeni s-a stabilit prin observații directe ale simptomelor, conform metodologiilor specifice, după care s-a calculat gradul de atac. Prelucrarea statistică și interpretarea rezultatelor au permis ierarhizarea genotipurilor studiate în funcție de comportarea lor la atacul principalelor boli bacteriene și fungice. Cultivarurile cele considerate rezistente sau tolerante au fost considerate genotipuri valoroase pentru lucrările de creare de noi soiuri.

Studiile privind reacția unor genotipuri de prun la infecțiile artificiale cu două

tulpini de Plum pox, și anume PPV - D și PPV - Rec, respectiv rezultatele testelor serologice DAS - ELISA și analizelor moleculare PCR, au confirmat forma de rezistență la Plum pox declanșată de hipersensibilitate, manifestată de soiul 'Jojo', obținut la Hohenheim (Germania), de HARTMANN și a soiului 'Jofela' obținut prin încrucișare între 'Jojo' x 'Felsina'.

Chiar dacă celelalte soiuri noi din grupul 'Top' s-au dovedit tolerante, după testare s-a demonstrat că prin grefe de muguri și scoarță care conțineau izolate de PPV, infecția s-a transmis soiurilor. Folosind genotipul 'Jojo' în diferite combinații hibride, există premise pentru obținerea unor noi soiuri de prun cu rezistență prin hipersensibilitate la virusul Sharka. De asemenea, printre alți potențiali genitori în acest sens au fost identificate soiurile 'Local de Drăgășani' și 'Čačanska najbolia'.

Studiile privind morfologia grăunciorilor de polen prin microscopie confocală, respectiv stabilirea capacității de germinare și viabilitate a polenului, au furnizat informații noi pentru literatura de specialitate, întrucât au fost testate genotipuri de prun care nu au fost studiate sub acest aspect.

Embriocultura este o tehnică foarte importantă, de salvare a embrionilor în combinațiile interspecifice și intraspecifice între genotipuri timpurii și foarte timpurii, caz în care semințele sunt uscate sau prezintă o germinabilitate foarte redusă. Cercetările recente au demonstrat că embriocultura *in vitro*, la numeroase genotipuri este o metodă de succes. Până în prezent, nu există studii privind aplicarea acestei tehnici la soiurile de *Prunus domestica*. Ca urmare, rezultatele acestui studiu sunt originale și constituie o premieră națională și mondială.

## Obiectivele cercetării

- Analiza diversității genetice și fenotipice a soiurilor de prun din câmpul experimental cu privire la rezistența față de atacul celor mai importante boli ale prunului.
- Testarea răspunsului unor noi soiuri de prun rezistente sau tolerante la PPV (Plum pox virus) prin infectare cu două tulpini izolate PPV - D și PPV - Rec.
- Identificarea potențialilor genitori pentru transmiterea rezistenței la boli, în funcție de comportarea lor la boli, în condiții de infecție naturală.
- Analiza diversității genetice și fenotipice a unor soiuri de prun sub aspectul morfologiei, viabilității și capacității de germinare a polenului.
- Utilizarea embrioculturii în ameliorarea prunului pentru obținerea unor cultivaruri timpurii.

Cercetările tezei de doctorat se situează într-un domeniu important, referitor la ameliorarea rezistenței prunului la atacul principalelor boli, în special la *Plum pox*, una dintre bolile cele mai păgubitoare ale speciilor sămburoase. Cercetările sunt în

concordanță cu obiective de mare interes în ameliorarea prunului. Acestea au fost inițiate astfel încât să aducă contribuții și recomandări privind modul de alegere a genitorilor recomandați pentru obținerea unor noi genotipuri cu rezistență sau toleranță la boli. În afara noutăților științifice și a valorii lor teoretice în acest domeniu de cercetare, s-a dorit ca rezultatele obținute să prezinte și o valoare aplicativă.

Teza de doctorat conține 157 pagini și este structurată după cum urmează: 9 capitole, 36 tabele, 15 figuri și 42 fotografii. Partea a II-a se referă la contribuțiile proprii și este structurată pe șase capitole și 94 pagini.

**Capitolul 1** prezintă importanța culturii prunului: în primul din cele două subcapitole se sintetizează importanța alimentară și terapeutică a prunelor; în al doilea subcapitol se fac referiri la importanța economică a culturii prunului și particularitățile datorită cărora această specie este cea mai cultivată din România.

**Capitolul 2** tratează principalele boli ale prunului identificate în câmpul experimental. Prunul este o specie sâmburoasă atacată de numeroase boli, multe dintre ele putând fi transmise și altor specii din această grupă. Cunoașterea și înțelegerea acestor boli sunt esențiale în scopul protejării prunului și găsirii resurselor genetice necesare obținerii de noi soiuri tolerante sau rezistente la atacul principalelor boli. Sunt prezentate cele mai răspândite și păgubitoare virusuri, ex. *Plum pox*, piticirea prunului, pătarea inelară necrotică, declinul prunului, mozaicul liniar. Dintre bacterii, cele mai mari pagube se datorează următoarelor: pătarea și ciuruirea bacteriană a frunzelor de prun (*Xanthomonas campestris* pv. *pruni*, *Pseudomonas syringae*, iar dintre bolile provocate de fungi: *Polystigma rubrum*, *Monilinia laxa*, *Taphina pruni*, *Coryneum beijerinckii*, *Tranzchelia pruni-spinosae*, *Stygmia carpophila*, toate fiind ilustrate cu fotografii originale.

**Capitolul 3** tratează probleme legate de obiectivele de ameliorare a prunului. HARTMANN și NEUMÜLLER (2009) au susținut că obiectivele de ameliorare la această specie variază de la o țară la alta și menționează ca fiind cele mai importante: rezistența ridicată la frig pentru regiunile nordice și mai redusă pentru regiunile din sud, productivitatea și rezistența la stres, rezistență la transport, soiuri cu coacere tardivă, capacitate bună de păstrare, modalități diferite de utilizare (în stare proaspătă sau prelucrată, deshidratată, sau conservată pentru brutării și patiserii), dar și caracteristicile fructelor (mărime, formă, gust, culoare etc.). În teză sunt abordate aceste particularități, insistându-se în special asupra ameliorării rezistenței la boli. Ameliorarea prunului pe principii moderne în România a început în urmă cu 60 ani, iar promotorul acesteia a fost profesorul Nicolae Constantinescu, urmat de Vasile Cociu, Roman Roman, Ion Botu, Nicolae Minoiu, care au folosit soiuri locale adaptate la condițiile climatice specifice, urmărind îmbunătățirea calității fructelor, concomitent cu rezistența la boli (în special rezistență sau toleranță la *Plum pox*). În această perioadă fructuoasă în ameliorarea prunului s-au obținut soiuri valoroase, precum 'Tuleu gras', 'Centenar', 'Carpatin', 'Tita', 'Pitești', 'Sarmatic', 'Albatros', 'Alina' etc., care au avut genitori diverși, ex. 'Agen Early Rivers', 'Ruth Gerstetter', 'Abbayed' Arton',

'Wilhelmina Späth', 'Grase de Bécs', 'Grase de Peșteana', 'Motroase de Mehedinți' etc. Urmând cu rigurozitate aceste obiective de ameliorare, până în prezent au fost obținute 38 soiuri de prun cu toleranță și rezistență la boli. La sfârșitul capitolului sunt prezentate cercetările în lucrările de ameliorare pentru bolile prunului, în primul rând pentru rezistență la virusul Sharka, apoi pentru rezistență la bolile bacteriene și fungice.

În **capitolul 4** sunt prezentate obiectivele de cercetare a prezentei teze. Fiecare obiectiv este argumentat și detaliat pentru o bună înțelegere a programului specific pentru teza de doctorat.

**Capitolul 5** descrie cadrul natural al câmpului experimental: condițiile climatice în care s-au desfășurat cercetările, orografie, hidrologie, climă, vegetație și sol.

**Capitolul 6** include o prezentare generală pentru material și metodă. În prima parte este prezentat materialul biologic, cu o descriere succintă a soiurilor, urmând metodologia de lucru și tehnicile aplicate (metodele de cercetare), într-un mod detaliat. Capitolul se încheie cu tehnicile statistice utilizate.

**Capitolul 7** reprezintă cea mai importantă parte a tezei, de prezentare a rezultatelor cercetării. În acest capitol, fiecare obiectiv stabilit la începutul cercetării este concretizat printr-un articol publicat, sau printr-un articol pregătit pentru publicare. Capitolul cuprinde șase subcapitole, fiecare dintre ele fiind, defapt un articol științific publicat sau pregătit pentru publicare.

În primul articol s-a analizat răspunsul diferitelor soiuri de prun la infecția artificială cu tulpinile D și Rec ale virusului *Plum pox*. Patru soiuri de prun, inclusiv 'Jojo', au fost testate în scopul de a identifica reacția lor la infecția artificială cu două tulpini de Plum pox: PPV - D și PPV – Rec. Cercetările au fost efectuate asupra soiurilor 'Topfirst', 'Tophit', 'Jojo' și 'Tepend Plus', materialul biologic provenind de la ferma privată SC Diafruct SRL din Sînmihaiu-Almașului, județul Sălaj, România, dintr-o plantație comercială tânără, înființată în anul 2011 cu pomi certificați *virus free*. Pomii au fost plantați la distanța de 5 m între rânduri și 2 m între pomi pe rând, rezultând o densitate de 1000 pomi/ha.

Pomii au fost inoculați cu două tulpini izolate de Plum pox, identificate până în prezent în România și izolate la Stațiunea de Cercetare Pomicolă din Bistrița, România. Probele de frunze au fost testate prin diagnosticul serologic (DAS - ELISA) și molecular (RT - PCR). Testarea serologică prin DAS-ELISA (Double Anticorp Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay) a fost realizată folosind anticorpi policlonali (kit Bioreba).

A existat o corelație foarte bună între testele serologice și cele de diagnostic molecular. Variantele 'Topfirst'/1/D, 'Topfirst'/2/ D, 'Topfirst'/ 3/D, 'Topfirst'/2/Rec, 'Tophit'/1/D, 'Tophit'/2/D, 'Tophit'/ 3/D, 'Tophit'/1/Rec, 'Tophit'/ 2/Rec, 'Tophit'/3/Rec, 'Tepend Plus'/1/D, 'Tepend Plus'/2 /D, 'Tepend Plus' /3/ D, 'Tepend Plus'/1 /Rec, 'Tepend Plus'/2/Rec, 'Tepend Plus'/3/Rec au avut valori de extincție, care au indicat prezența virusului Plum pox (DO-405nm- între 1108-3777).

Rezultatele au fost confirmate prin teste de diagnostic molecular (RT-PCR), care au detectat o sensibilitate foarte ridicată la variantele experimentale studiate. Variantele 'Jojo'/1/D, 'Jojo'/2/D, 'Jojo'/3/D, 'Jojo'/1/ Rec, 'Jojo'/2/Rec și 'Jojo'/3/Rec. au fost considerate negative. Varianta 'Topfirst'/1/Rec a avut o valoare de extincție mai mult decât dublă față de martorul negativ cu cea mai scăzută valoare, care a indicat un anumit potențial de inițiere a infecției. Rezultatele obținute au confirmat rezultatele lui HARTMANN și NEUMÜLLER (2009), contrazicând-le pe cele ale lui POLAK și JAROSOVA (2011).

Rezultatele privind răspunsul unor genotipuri de prun la bolile bacteriene cauzate de *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* (Smith) Dowson și *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* Dye et Wilkie, au demonstrat că dintre cele 13 soiuri studiate, toate au fost afectate de cei doi agenți patogeni în condițiile naturale de infecție din experiență, mai tolerante s-au dovedit 'Topend Plus', 'Jojo' și 'Tophit'. S-a considerat că genotipurile care au înregistrat cel mai scăzut grad de atac la aceste boli, pot fi recomandate ca genitori în noi lucrări de ameliorare a prunului, pentru obținerea unor cultivaruri cu o comportare adecvată la atacul bolilor bacteriene.

În privința reacției genotipurilor de prun la infecțiile naturale cu *Monilinia laxa*, *Polystigma rubrum* și *Stigmia carpophila*, rezultatele au ilustrat că cea mai bună comportare la atacul de *Monilinia laxa* pe floare l-a avut 'Topend Plus', urmat de 'Jojo', 'Top Hit' și 'Nectarina roșie'. Pe fructe, cel mai redus atac de *Monilinia laxa* s-a înregistrat la soiurile 'Topend Plus', 'Jojo', 'Tophit' și 'Topfirst'. Cel mai redus grad de atac la pătarea roșie a frunzelor (*Polystigma rubrum*) a fost înregistrat la soiurile 'Topend Plus', 'Jojo', 'Top Hit', 'Top Taste', 'Nectarină roșie' și 'Topfirst', iar atacul cel mai puternic s-a manifestat la genotipurile 'Anna Späth', 'Vinete românești', 'Vinete de Italia' și 'Tuleu timpuriu'. Cultivarurile 'Topend Plus', 'Jojo', 'Tophit', 'Top Taste', 'Nectarină roșie', 'Topfirst' au fost relativ puțin afectate de *Stigmia carpophila* (Lev) și cu atât mai puțin 'Vinete românești', 'Anna Späth', 'Vinete de Italia', 'Tuleu timpuriu' și 'Tuleu gras'.

Rezultatele privind reacția genotipurilor de prun la infecția naturală cu *Taphrina pruni* (Fuck.) Tul., *Fusicladium pruni* Ducomet și *Tranzschelia pruni-spinosae* Persoon Dietel au relevat o amplă variabilitate a comportării soiurilor de prun și la atacul acestor agenți patogeni. Această variabilitate a permis identificarea genotipurilor cu cea mai bună comportare, ilustrată de cel mai redus grad de atac. Astfel, soiurile cele mai tolerante la atacul de *Taphrina pruni* au fost 'Topend Plus', 'Jojo', 'Tophit', 'Tuleu timpuriu' și 'Topfirst'. Gradul cel mai scăzut de atac la *Fusicladium pruni* Ducomet s-a înregistrat la soiurile 'Topfirst', 'Topend Plus', 'Tophit', 'Jojo', 'Hangata', 'Anna Spath' și 'Toptaste'. În fine, soiurile 'Jojo', 'Top Hit', 'Topend Plus', 'Anna Späth', 'Top Taste', 'Tuleu gras' și 'Nectarină roșie' au fost ușor atacate de rugina prunului (*Tranzschelia pruni-spinosae*).

Rezultatele cu privire la studiul morfologiei polenului, a viabilității și germinăției polenului la câteva soiuri de prun cultivate în România demonstrează că

toate genotipurile studiate au prezentat grăunciori de polen izopolari, simetrici cu trei colpi. Soiurile 'Toptaste', 'Topfive' și 'Gras ameliorat' au avut grăunciori de polen mari (> 50μm), în timp ce soiurile 'Jojo', 'Anna Späth' și 'Stanley' au prezentat grăunciori de mărime medie (48.41-45.28 μm). Analizele microscopice au evidențiat faptul că polenul de prun are formă prolat - sferică în poziție polară și sferic triunghiulară în poziție ecuatorială. Exina, așa cum a arătat ČALIĆ (2013) este striată cu trei colpi subliniată și de GILANI (2010). Dimensiunile grăunciorilor de polen este diferită în funcție de genotip (de la 1.02 μm L/W - Topfive la 1.17 μm L/W - 'Jojo').

Polenul soiurilor autofertile ('Jojo', 'Anna Späth', 'Stanley') poate germina foarte repede (după 3 h) la 20°C, dar și la temperaturi de 10°C și 15°C. Soiul 'Stanley' a înregistrat procentul de germinație cel mai ridicat (87.0%) la 10°C după 24 h. Viabilitatea polenului a fost diferit la cele șase soiuri de prun studiate. Viabilitatea a fost ridicată, de peste 38% la 'Jojo', 'Toptaste' și 'Anna Späth', decât la restul soiurilor studiate (între 26.3 și 34.4%). 'Gras ameliorat' a avut cea mai scăzută viabilitate a polenului (26.33%). 'Stanley' a prezentat cea mai redusă germinație. Lungimea tubului polinic (LTP) a variat semnificativ în funcție de genotip și condiții de mediu (timp de expunere și temperatură). 'Anna Späth' a prezentat cel mai lung tub polinic (1061.1 μm), după 24 h la 15°C. Valori similare au fost înregistrate la 'Stanley' (578.0 μm) și 'Gras ameliorat' (523.0 μm) după 3 h la 13°C.

Embriocultura a fost dezvoltată ca un instrument important în cazul semințelor cu viabilitate scăzută. Această tehnică este utilă pentru producerea de plante viabile prin extragerea de embrioni din semințele imature. În studiul de față a fost arătat faptul că în cazul unor combinații hibride embrionii extrași din semințe pot germina cu mare succes în culturi *in vitro*. Procentul cel mai ridicat de germinație (82.00 %) a fost înregistrat de combinația 'Toptaste' x 'Jojo'. Acest procent de germinație este profund influențat de compoziția mediului de cultură și stadiul de dezvoltare a embrionului (REED, 2005; SADEGHI, 2015).

Rezultatele obținute în acest studiu arată că mediul de cultură MS (Muraschige Skoog) ½ suplimentat cu 3 mg/l BAP și 0,5 mg/l NAA poate genera o proliferare foarte bună așa cum a evidențiat și SADEGHI (2015). Îmbunătățirea mediului de cultură cu 0.5 mg/l NAA a determinat un număr de lăstari de (9.63) și o lungime medie de (6.23 cm). Rezultatele obținute permit sublinierea faptului că mediul de cultură MS se recomandă pentru embriocultura unor soiuri de prun. Cercetările efectuate în cadrul acestui domeniu reprezintă o premieră în inițierea embrioculturilor la prun, atât în România cât și în străinătate.

### **Concluzii generale:**

1. Rezistența la boli, în special la Sharka se numără printre principalele obiective ale ameliorării prunului în Europa și în întreaga lume.
2. Bolile cele mai importante care atacă prunii din Transilvania, respectiv județul

Sălaj, sunt următoarele: *Xanthomonas campestris pv. pruni* (Smith) Dowson, *Pseudomonas syringae pv. morsprunorum* (Dye et Wilkie), *Monilinia laxa*, *Polystigma rubrum*, *Stigmata carpophila*, *Taphrina pruni* (Fuck.) Tul., *Fusicladium pruni* Ducomet, *Tranzschelia pruni-spinosae* Persoon Dietel., iar în afară de acestea, cele mai periculoase sunt bolile virotice, în mod deosebit Sharka.

3. Obținerea de noi soiuri tolerante sau rezistente la boli este un obiectiv permanent în activitatea de ameliorare a prunului. Studiile privind reacția genotipurilor de prun la boli este una dintre modalitățile de obținere a surselor genetice pentru ameliorare.
4. Ameliorarea soiurilor de prun rezistente la boli implică, printre altele, selecția de genotipuri rezistente, în scopul de a le folosi ca genitori în lucrările de hibridare. Soiul 'Jojo' utilizat ca părinte matern sau patern, poate fi o formă parentală valoroasă în programele de ameliorare a prunului care vizează obținerea de soiuri rezistente prin hipersensibilitate la virusul Sharka.
5. Luând în considerare unele opinii contradictorii privind ereditatea și comportarea soiurilor de prun la atacul de PPV, sunt necesare studii pe termen lung pentru a elucida potențialul de utilizare a mecanismului de hipersensibilitate în combaterea acestei boli.
6. Avantajul principal al rezistenței prin hipersensibilitate este legat de faptul că evită răspândirea virusului, acesta rămânând blocat în zona de infectare.
7. Rezultatele obținute de POLAK și JAROSOVA (2011) evidențiază chiar posibilitatea unei infecții sistemice cu o exteriorizare de simptome evidente de PPV, ceea ce înseamnă că stabilitatea acestui mecanism ar putea fi relativ.
8. Rezultatele obținute în acest experiment confirmă rezultatele lui HARTMANN și NEUMÜLLER (2009) și contrazice rezultatele obținute de POLAK și JAROSOVA (2011).
9. Soiurile cele mai rezistente la *Xanthomonas campestris pv. pruni* (Smith) Dowson și *Pseudomonas syringae* au fost 'Tepend Plus', 'Jojo', 'Tophit'.
10. Cea mai bună comportare atacul de *Monilinia laxa* pe floare l-a prezentat 'Tepend Plus', urmat de soiurile 'Jojo', 'Tophit', 'Nectarină roșie'. 'Tuleu timpuriu', 'Stanley' și 'Tuleu gras' au înregistrat un grad ridicat de *Monilinia laxa* pe fructe (34.3-27.3 %).
11. Soiurile cu cel mai mic atac de *Monilinia laxa* pe fructe au fost 'Tepend Plus', 'Jojo', 'Tophit' și 'Topfirst'.
12. Cel mai redus grad de atac la pătarea roșie a frunzelor (*Polystigma rubrum*) a fost înregistrat la soiurile 'Tepend Plus', 'Jojo', 'Top Hit', 'Top Taste', 'Nectarină roșie' și 'Topfirst', iar atacul cel mai puternic s-a manifestat la genotipurile 'Anna Späth', 'Vinete românești', 'Vinete de Italia' și 'Tuleu timpuriu'.
13. Cultivarurile 'Tepend Plus', 'Jojo', 'Tophit', 'Top Taste', 'Nectarină roșie', 'Topfirst' au fost afectate mai puțin de *Stigmata carpophila* (Lev). Foarte puțin



- afectate au fost soiurile 'Vinete românești', 'Anna Späth', 'Vinete de Italia', 'Tuleu timpuriu' și 'Tuleu gras'.
14. În condițiile climatice din Transilvania, mai precis din județul Sălaj, bolile provocate de *Taphrina pruni* (Fuck.) Tul., *Fusicladium pruni* Ducomet și *Tranzschelia pruni-spinosae* Persoon Dietel în condiții naturale de infecție produc pagube semnificative.
  15. Soiurile cele mai puțin atacate de *Taphrina pruni* au fost 'Topend Plus', 'Jojo', 'Tophit', 'Tuleu timpuriu' și 'Topfirst'. Gradul de atac cel mai scăzut, provocat de *Fusicladium pruni* Ducomet a fost înregistrat la soiurile 'Topfirst', 'Topend Plus', 'Tophit', 'Jojo', 'Hangata', 'Anna Späth' și 'Toptaste'. Soiurile 'Jojo', 'Tophit', 'Topend Plus', 'Anna Späth', 'Top Taste', 'Tuleu gras' și 'Nectarină roșie' au fost atacate sporadic de rugina prunului.
  16. Așa cum a arătat REED (2005), embriocultura este utilizată cu succes de mulți ani pentru a produce hibridi inter - și intraspecifici sau în cazul germinării embrionilor care nu se dezvoltă complet *in vivo*.
  17. În studiul de față s-a constatat faptul că în cazul anumitor combinații hibride embrionii extrași din semințe pot germina cu mare succes în culturi *in vitro*. Procentul cel mai ridicat de germinație (82.00 %) a fost înregistrat de combinația 'Toptaste' x 'Jojo'. Acest procent de germinație a fost considerabil influențat de compoziția mediului de cultură și stadiul de dezvoltare a embrionului (REED, 2005; SADEGHI, 2015).
  18. Rezultatele obținute în acest studiu au demonstrat că mediul de cultură MS (Murashige-Skoog)  $\frac{1}{2}$  suplimentat cu 3 mg/l BAP și 0,5 mg/l NAA poate genera o proliferare foarte bună așa cum a evidențiat și SADEGHI (2015). Rezultatele obținute permit sublinierea faptului că mediul de cultură MS se recomandă pentru embriocultura la unele soiuri de prun.
  19. Studii recente evidențiază faptul că îmbunătățirea mediului de cultură cu 1.5 mg/l IBA determină obținerea unor rezultate bune la înrădăcinarea embrionilor, fapt confirmat de SADEGHI (2015).
  20. Studiile privind morfologia, viabilitatea și germinația polenului de prun ajută la înțelegerea biologiei reproductive a prunului, în special a producției de fructe și a calității fructelor (ASMA, 2008; SUTYEMEZ 2011). Au fost determinate unele caractere morfologice ale polenului la șase genotipuri de prun. Polenul a fost similar ca formă și structură a exinei la toate soiurile studiate. Mărimea grăunciorilor de polen a variat în funcție de genotip (de la 1.02  $\mu\text{m}$  L/W – 'Topfive' până la 1.17  $\mu\text{m}$  L/W – 'Jojo').
  21. Rezultatele au ilustrat că germinația polenului poate fi influențată de temperatură, după cum a evidențiat SORKHEH (2011b). Procentul de germinație a fost influențat și de temperatura de germinație și de genotip, fapt demonstrat și de NIKOLIĆ (2012).
  22. Viabilitatea polenului a fost diferită la cele șase soiuri de prun studiate.

- Viabilitatea a fost ridicată, de peste 38%, la 'Jojo', 'Toptaste' și 'Anna Späth', comparativ cu restul soiurilor studiate (la care germinația s-a situat între 26.3 și 34.4%). 'Gras ameliorat' a avut cea mai scăzută viabilitate a polenului (26.33%).
23. Polenul soiurilor autofertile ('Jojo', 'Anna Späth', 'Stanley') poate germina foarte repede (după 3 h) la 20°C, dar și la temperaturi de 10°C și 15°C. Soiul 'Stanley' a înregistrat procentul de germinație cel mai ridicat (87.0%) la 10°C, după 24 h.
  24. Lungimea tubului polinic (LTP) a variat semnificativ în funcție de genotip și condiții de mediu (timp de expunere și temperatură). 'Anna Späth' a prezentat cel mai lung tub polinic (1061.1 μm), după 24 h la 15°C. Valori similare au fost înregistrate la 'Stanley' (578.0 μm) și 'Gras ameliorat' (523.0 μm) după 3 h la 13°C.
  25. Rezultatele cu privire la evaluarea viabilității și germinabilității polenului pot fi utile în programele de ameliorare.

## 9. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei

Rezultatele tezei de doctorat au un grad ridicat de originalitate, unele fiind inedite pentru literatura de specialitate din domeniu. Lucrarea se constituie într-un studiu complet în ceea ce privește reacția unor soiuri la bolile cele mai importante ale prunului, în condiții de infecție naturală, în câmp. Studiul oferă premise pentru lucrări de selecție a formelor parentale necesare creării de soiuri noi, rezistente la principalele boli ale prunului.

Rezultatele privind reacția soiului 'Jojo' care prezintă rezistență prin hipersensibilitate la Plum pox comparativ cu alte trei soiuri ('Topend Plus', 'Tophit' și 'Topfirst') la cele două tulpini izolate, PPV - D și PPV - Rec, au confirmat faptul că soiul 'Jojo' poate fi utilizat ca genitor matern sau patern în scopul obținerii de noi soiuri de prun rezistente prin hipersensibilitate la Plum pox.

În cadrul cercetărilor, a fost elaborat în premieră un protocol pentru regenerarea *in vitro* a embrionilor de prun, multiplicarea, alungirea, înrădăcinarea apoi și aclimatizarea neoplantulelor; aceste rezultate pot sta la baza producerii hibridilor inter - și intraspecifici, obținerii unor descendenți rezultați din combinații hibride între soiuri timpurii și foarte timpurii, care formează semințe sterile sau au capacitate de germinație foarte scăzută. Teza oferă de asemenea noi informații privind morfologia, viabilitatea și capacitatea de germinare a polenului la diferite soiuri de prun, rezultatele originale obținute în cadrul cercetărilor fiind publicate în 'Journal of the American Pomological Society'.

---

**BIBLIOGRAFIE**

1. ASMA, B.M. 2008. Determination of pollen viability, germination ratios and morphology of eight apricot genotypes. *Afr. J. Biotechnol.* 7(23):4269-1273.
2. ČALIĆ, D. N. DEVRNJA, I. KOSTIĆ, M. KOSTIĆ. 2013. Pollen morphology, viability, and germination of *Prunus domestic acv.* Požegača. *Sci. Hortic.* 155:118-122.
3. GILANI, S.A., R.A. QURESHI, A.M. KHAN, D. POTTER. 2010. Morphological characterization of the pollens of the selected species of genus *Prunus* Linn. from Northern Pakistan. *Afr. J. Biotechnol.* 9(20):2872-2879.
4. HARTMANN W., N. NEUMÜLLER, 2009. Plum breeding In: S.M. Jain, P.M. Priyadarshan (eds.), *Breeding Plantation Tree Crops: Temperate Species.* pp. 1-71, 161-231, 210-211. *Springer Science and Business Media, LLC.*
5. NIKOLIĆ D.T., V.S. RAKONJAC, M.M. FOTIRIĆ-AKŠIĆ. 2012. The effect of pollenizer on the fruit set of plum cultivar Čačanska Najbolja, *J. Agri. Sci.* 57(1):9-18.
6. POLÁK J., J. JAROSOVA, 2011. Hypersensitivity of *Prunus domestica* L. 'Jojo' was changed by PPV-D strain into very high sensitivity. *Acta Horticulturae*, 899, 87-93.
7. REED S., 2005. Embryo rescue – Chapter 18: Concepts. *CRC Press LLC.*
8. SADEGHI F., A. YADOLLAHI, M. JAFARKHANI KERMANI, M. EFTEKHARI, 2015. Optimizing culture media for in vitro proliferation and rooting of Tetra (*Prunus empyrean3*) rootstock. *Journal of Genetic Engeneering and Biotechnology* 13:19-23.
9. SORKHEH K., S. H. BEHROUZ, R. VAHID, K. MAHMOOD, 2011b. Influence of temperature on the in vitro pollen germination and pollen tube growth of various native Iranian almonds (*Prunus l. spp.*) species. *Trees* 25:809-822.
10. SUTYEMEZ, M. 2011. Pollen quality, quantity and fruit set of some selfcompatible and self-incompatible cherry cultivars with artificial pollination. *Afr. J. Biotechnol.* 10(17):3380-3386.