

TEZĂ DE DOCTORAT

Evaluarea potențialului de utilizare a rezistenței de tip monogenic și poligenic la rapăn în ameliorarea mărului

(REZUMAT AL TEZEI DE DOCTORAT)

Doctorand **Georgeta Maria Bivolariu (căs. Guzu)**

Conducător de doctorat **Prof. univ. dr. Mirela Irina Cordea**



INTRODUCERE

Conform studiilor recente, se estimează că până în anul 2050 populația globală va atinge aproximativ 10 miliarde de locuitori. În acest context, este esențial să se identifice soluții moderne prin care agricultura să poată furniza cantități suficiente de hrană, de calitate superioară și la costuri reduse. Mărul (*Malus domestica*) este una dintre cele mai importante culturi fructifere din lume, având un rol crucial în pomicultură datorită valorii sale economice, alimentare și culturale.

În secolul XX, programele de ameliorare ale speciilor pomicole se concentrau pe obținerea de soiuri cu trăsături estetice și gustative deosebite. În prezent, majoritatea acestor programe la măr sunt orientate spre dezvoltarea unor soiuri cu rezistență durabilă la bolile majore care au un impact economic semnificativ (Hofer *et al.*, 2021), printre care se enumără și rapănul (*Venturia inaequalis*).

Astfel, cercetările pentru obținerea unor soiuri de măr de top, cu rezistență durabilă și fructe de calitate superioară, sunt fundamentale pentru un viitor în care producția de mere să fie mai ecologică și mai rezistentă.

Teza de doctorat propune dezvoltarea unor populații hibride de măr care să prezinte rezistență sau toleranță la rapăn, una dintre cele mai dăunătoare boli ale mărului, provocată de ciuperca *Venturia inaequalis*, aliniindu-se cerințelor actuale din domeniul ameliorării.

STRUCTURA TEZEI DE DOCTORAT

Teza de doctorat intitulată: **Evaluarea potențialului de utilizare a rezistenței de tip monogenic și poligenic la rapăn** este formată din 149 pagini care cuprind 10 capitole, 58 figuri, și 32 tabele. Teza de doctorat este structurată în două mari părți. Prima parte intitulată **Stadiul actual al cunoașterii** reprezintă documentația la zi asupra problematicei alese. Este structurată în 2 capitole și cuprinde 29 pagini, care reprezintă 23% din totalul tezei. A doua parte reprezintă **Contribuția personală**, care este prezentată în 97 pagini și cuprinde 8 capitole 47 figuri și 29 tabele, reprezentând 77% din totalul tezei. În această secțiune sunt prezentate în detaliu experiențele desfășurate în perioada 2021-2024. Bibliografia este alcătuită din 156 referințe bibliografice atât authtone cât și străine, dar și patru citări web.

Studiul actual al cunoașterii:

Capitolul 1. Cultura mărului pe plan mondial și în România prezintă aspecte recente legate de importanța mărului, dar și situația culturii mărului atât pe plan mondial cât și în România.

Capitolul 2. Considerații generale privind rezistența mărului la rapăn descrie pe de o parte taxonomia, simptomatologia și evoluția patogenului *Venturia inaequalis*, iar

pe de altă parte prezintă informații detaliate legate de rezistența mărilor la acest patogen precum și implicațiile MAS în ameliorarea mărilor.

Contribuția personală:

Capitolul 3. Scopul și obiectivele cercetărilor prezintă scopul central al tezei de doctorat, dar și obiectivele propuse pentru îndeplinirea acestuia.

Capitolul 4. Particularitățile mediului natural al cercetării descrie atât pe o perioadă de 10 ani cât și pentru perioada experimentală, elementele de relief, hidrologie și clima mediului în care s-au realizat cercetările.

Capitolul 5. Studiul 1 - Identificarea și alegerea genitorilor în vederea utilizării lor într-un program de ameliorare a mărilor se prezintă criteriile după care s-au ales genitorii pentru programul de ameliorare la măr precum și protocoalele de lucru pentru etapa de selecție prin metoda MAS, însoțite de rezultatele obținute.

Capitolul 6. Studiul 2 - Efectuarea hibridărilor artificiale și obținerea plantelor hibride de măr descrie organizarea experiențelor de polenizare artificială precum și rezultatele obținute în acest sens.

Capitolul 7. Studiul 3 - Evaluarea și selecția hibrizilor de măr cu ajutorul metodei Marker Assisted Selection (MAS) prezintă etapele de lucru dar și rezultatele obținute în vederea identificării prezenței/absenței genelor de interes pentru rezistența la rapăn (*Rvi6*, *Rvi2*, *Rvi5*).

Capitolul 8. Studiul 4 - Înfăințarea câmpului de hibrizi descrie aspecte legate de plantarea în teren a hibrizilor care au moștenit genele de rezistență la rapăn, dar și comportarea acestora la infecțiile naturale cu rapăn.

SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRILOR

Scopul central a tezei de doctorat fost obținerea unor populații hibride de măr care să prezinte rezistență sau toleranță la una dintre cele mai dăunătoare boli ale mărilor, rapănul, cauzată de ciuperca *Venturia inaequalis*, în concordanță cu cerințele actuale din domeniul ameliorării.

Pentru îndeplinirea scopului prezentei teze de doctorat s-au stabilit următoarele obiective:

- a. Identificarea genitorilor de măr pentru a fi folosiți în programele de ameliorare cu scopul de a obține hibrizi cu rezistență rezistență/toleranță la rapăn.
- b. Efectuarea polenizărilor artificiale între genitorii aleși pe baza caracteristicilor care se doresc a fi transferate în descendențele hibride;
- c. Identificarea hibrizilor care au moștenit genele de rezistență la rapăn cu ajutorul markerilor moleculari prin intermediul MAS;

d. Înființarea câmpului de hibrizi și monitorizarea comportamentului plantelor descendente hibride în condiții de infecție naturală cu ciuperca *Venturia inaequalis*;

PARTICULARITĂȚILE MEDIULUI NATURAL AL CERCETĂRII

Experiențele realizate în cadrul acestei teze de doctorat, atât cele efectuate în câmp, cât și cele realizate în laborator, au avut loc la Stațiunea de Cercetare-Dezvoltare pentru Pomicultură Bistrița (SCDP Bistrița), situată în nordul României, pe dealurile Bistriței. În timpul desfășurării studiilor, temperaturile și precipitațiile au fost analizate în două etape. Prima etapă a avut loc între 2021-2022, când datele au fost analizate în contextul polenizărilor artificiale, iar a doua etapă a fost în perioada 2023-2024, când datele au fost studiate în legătură cu plantarea și dezvoltarea hibrizilor de măr în teren.

În luna mai, perioada în care au avut loc hibridările artificiale, temperatura medie anuală a fost de 13,3°C (2021) și 15,3°C (2022). Mai exact, temperatura înregistrată în zilele de polenizare a variat între 3,9°C și 10,4°C în 2021, respectiv între 5,9°C și 8,2°C în 2022.

Pentru anii în care hibrizii au fost transferați în teren, valorile medii lunare au fost între -0,6°C (ianuarie) și 21,4°C (august) în 2023, respectiv între -0,3°C (ianuarie) și 24,4°C (iulie) în 2024. Hibrizii au fost plantați în teren în luna aprilie, cu temperaturi de 8,4°C (2023) și 6,4°C (2024).

Suma precipitațiilor în anii în care s-au realizat polenizările artificiale a fost de 847,5 mm (2021) și 838,6 mm (2022), iar în anii plantării hibrizilor în teren, a fost de 765,7 mm (2023) și 743,2 mm (2024).

STUDIUL 1 - IDENTIFICAREA GENITORILOR ÎN VEDEREA OBTÎNERII UNOR HIBRIZI REZISTENȚI LA RAPĂN

Scopul studiului

Scopul studiului 1 este de a evalua diferite soiuri de măr cu caracteristici genetice specifice, în vederea obținerii unor soiuri cu rezistență sporită la rapăn, determinată de prezența genei *Rvi6* (*Vf*). Prin urmare, acest studiu se axează pe alegerea unor soiuri de măr rezistente și mai productive, care să răspundă cerințelor pieței și să contribuie la reducerea utilizării pesticidelor în producția de mere prin obținerea unor descendente rezistente sau tolerante la atacul de rapăn.

Materiale și metode

Materialul biologic utilizat a fost constituit din 23 de soiuri de măr ('Alex', 'Auriu de Bistrița', 'Bistrițean', 'Dany', 'Doina', 'Fiesta', 'Florina', 'Fuji Kiku', 'Gala

Mitchgla', 'Generos', 'Golden delicious', 'Goldprim', 'Idared', 'Jonathan', 'Katja', 'Lena', 'Pinova', 'Red Cap', 'Reinette du Canada', 'Salva', 'Starkrimson', 'Williams Pride' și 'Yellow') fiecare cu caracteristici și trăsături diferite

Metoda folosită a fost Marker-Assisted Selection (MAS), care joacă un rol important în ameliorarea mărului, permițând identificarea rapidă și precisă a genelor de interes, accelerând astfel procesul de dezvoltare a noilor soiuri cu trăsături dorite. Genitorii au fost amplificați folosindu-se în total patru perechi de primeri (după caz) dintre care două perechi de primeri dominante (AM19, U1400) și celelalte două codominante (AL07 și VFC) capabil să distingă genotipurile homozigote de cele heterozigote.

Rezultate și concluzii

În urma analizelor moleculare realizate s-a constatat că soiurile care au în zestrea genetică gena *Rvi6* (*Vf*) în stare dominantă sunt: 'Salva', 'Bistrițean', 'Williams Pride', 'Florina', 'Lena', 'Pinova', 'Goldprim', 'Dany', 'Doina' și 'Alex'. Prin urmare acestea prezintă un genotip heterozigot (*Vf**vf*). Restul, 'Idared', 'Jonathan', 'Golden delicious', 'Starkrimson', 'Auriu de Bistrița', 'Fiji Kiku', 'Red Cap', 'Katja', 'Gala Mitchgla', 'Fiesta', 'Yellow' și 'Reinette du Canada' posedă gena de tip *vf*, dar în stare recesivă, astfel, acestea prezintă genotipul homozigot recesiv (*vf**vf*).

Genotipurile heterozigote (*Vf**vf*), care arată prezența genei *Rvi6* (*Vf*) în stare dominantă au prezentat bandă de amplificare în gel la următoarele pb: 570 pb (AL07), 526 pb (AM19), 338 pb (U1400), respectiv 286 pb (VFC). Pe de altă parte, gena *vf* în stare recesivă a indicat acele probe care au genotipul homozigot recesiv, obținând o amplificare în gel la următoarele pb: 823 pb (AL07), 484 și 646 pb (VFC). Pe baza rezultatelor obținute au fost selectate zece soiuri: 'Auriu de Bistrița', 'Salva', 'Bistrițean', 'Generos', 'Florina', 'Idared', 'Golden delicious', 'Starkrimson', 'Jonathan' și 'Williams Pride'.

STUDIUL 2 - EFECTUAREA HIBRIDĂRILOR ARTIFICIALE ȘI OBTINEREA PLANTELOR HIBRIDE DE MĂR

Scopul studiului

Scopul studiului a fost acela de a realiza combinații hibride între genitorii selectați, iar ulterior de a obține o variabilitate de plante hibride (F1) care să combine atât rezistența la rapăn, cât și calitățile superioare ale fructelor, astfel încât, în final, să se obțină noi cultivare de măr cu calități superioare celor existente în cultură.

Materiale și metode

În anii 2021 și 2022, la SCDP Bistrița, au fost realizate combinații hibride intraspecifice pentru obținerea hibrizilor de măr din generația F1. Au fost efectuate 20 combinații intraspecifice utilizând 10 soiuri de măr, dintre care patru autohtone ('Auriu de Bistrița', 'Salva', 'Bistrițean' și 'Generos') și șase din import ('Florina', 'Jonathan', 'Golden Delicious', 'Stakrimson', 'Idared' și 'Williams Pride').

Pentru realizarea hibridării artificiale, au fost parcurse șapte etape esențiale: selecția genitorilor, alegerea pomilor din livadă și identificarea inflorescențelor din coroană, izolarea și castrarea florilor de pe pomul matern, recoltarea polenului de pe pomul patern, polenizarea artificială, monitorizarea legării florilor și, în final, recoltarea fructelor hibride.

Rezultate și concluzii

În vederea interpretării rezultatelor s-a cuantificat următoarele: numărul de semințe hibride obținute și procentul de răsărire de la fiecare combinație. În final s-a calculat procentul de hibrizi care au trecut de prima etapă a selecției respectiv cei care au fost suficient de bine dezvoltati pentru a fi ulterior testați molecular.

Prin utilizarea soiului 'Florina' ca genitor patern, au fost realizate cinci combinații hibride, din care s-au obținut un total de 888 de semințe hibride. După germinare, au fost selectate plantele hibride sănătoase, adecvate pentru transplantarea în ghivece individuale. Astfel, din cele 888 de semințe hibride, au răsărit 425 de plante hibride (47,9%), care au fost ulterior transplantate în recipiente pentru o dezvoltare corespunzătoare. Pe parcursul perioadei de vegetație, plantele au fost monitorizate atent în ceea ce privește dezvoltarea, iar la finalul acesteia, 337 de plante (79,3%) au fost pregătite pentru testare. În cazul acestor polenizări, cele mai bune rezultate s-au obținut la combinațiile hibride 'Starkrimson' x 'Florina' (98,0%), urmată de 'Auriu de Bistrița' x 'Florina' (96,9%).

În cazul combinațiilor hibride în care rezistența mărului la rapăn a fost transferată de la genitorul matern 'Salva', s-au obținut un total de 651 de semințe hibride, din care un număr de 165 de răsaduri hibride (25,4%) ulterior au fost repicate la ghivece individuale. Dintre hibrizii repicați pentru testarea prin metode moleculare au fost aleși un număr de 97 de hibrizi (58,8%). Din cadrul combinațiilor hibride unde s-a folosit genitorul matern soiul 'Salva', cel mai mare procent de hibrizi transplantați în ghivece individuale a fost la 'Salva' x 'Jonathan' (84,8%), urmat îndeaproape de combinația hibridă 'Salva' x 'Starkrimson' (81,8%).

Din cadrul combinațiilor unde soiul 'Generos' folosit ca genitor patern au fost obținute un total 730 semințe hibride. Din acestea au răsărit un număr de 227 hibrizi (31,1%) care ulterior au fost mutați pentru dezvoltare optimă în ghivece individuale. Cele mai bune procente de hibrizi potriviți pentru plantarea în ghivece au fost obținute

în cazul a două combinații: 'Auriu de Bistrița' x 'Generos' (38,5%) și 'Jonathan' x 'Generos' (37,5%).

În cadrul combinațiilor hibride în care soiului 'Generos' a fost utilizat drept genitor matern s-a obținut 473 de semințe hibride din care au răsărit un număr de 156 de plante hibride (33%) care au supraviețuit și s-au dezvoltat optim pentru repicarea în recipiente individuale. Acestea se încadrează în trei dintre combinații, iar pe primele locuri se află combinația 'Generos' x 'Idared' (53,6%), urmată strâns de combinația 'Generos' x 'Jonathan' (46,0%).

STUDIUL 3 - EVALUAREA ȘI SELECȚIA HIBRIZILOR DE MĂR CU AJUTORUL METODEI MARKER ASSISTED SELECTION (MAS)

Scopul studiului

Scopul acestui studiu a fost evaluarea hibrizilor, obținuți din cele opt combinații hibride realizate în urma polenizărilor artificiale realizate în anul 2021, prin intermediul selecție MAS cu ajutorul markerilor moleculari. Pentru realizarea acestuia s-au organizat două experiențe: **Experiența 1 - Analiza la nivel molecular a hibrizilor pentru identificarea genei *Rvi6* (*Vf*)**, și **Analiza la nivel molecular a hibrizilor pentru identificarea genele *Rvi2* (*Vh2*) și *Rvi5* (*Vm*)**.

Materiale și metode utilizate în cadrul Experienței 1 (identificarea genei *Rvi6*) și a Experienței 2 (identificarea genelor *Rvi2* și *Rvi5*).

Materialul biologic utilizat a fost reprezentat de mai multe populații hibride de măr din generația F1, obținute în urma unor polenizări artificiale realizate în cazul a cinci combinațiilor hibride unde s-a folosit drept genitor patern soiul 'Florina' ('Auriu de Bistrița' x 'Florina', 'Jonathan' x 'Florina', 'Starkrimson' x 'Florina', 'Idared' x 'Florina'), respectiv din cadrul a trei combinații hibride unde s-a utilizat ca genitor matern soiul 'Salva' ('Salva' x 'Auriu de Bistrița', 'Salva' x 'Jonathan', 'Salva' x 'Starkrimson'). Toti hibrizii s-au testat prin metoda MAS utilizând primeri specifici fiecărei genă în parte. Pentru gena *Rvi6* (*Vf*) au fost folosiți primerii AL07 - codominant (Khajuria *et al.*, 2004), AM19-dominant (Tartarini *et al.*, 1999) și VFC – codominant (Afunian *et al.*, 2004), pentru *Rvi2* (*Vh2*) primerul OPL19 (Bus *et al.*, 2005), iar pentru gena *Rvi5* (*Vm*) primerul OPB12 (Cheng *et al.*, 1998).

Rezultate și concluzii privind Experiența 1 (identificarea genei *Rvi6*)

În urma aplicării metodei MAS numărul hibrizilor care au moștenit gena *Rvi6* (*Vf*) a diferit în funcție de combinația hibridă respectiv originea sursei de rezistență (fie de la genitorul matern, fie de la genitorul patern).

Prin urmare din cadrul combinațiilor unde sursa de rezistență a provenit de la genitorul patern ('Florina') s-au obținut următoarele rezultate. Astfel, din combinația 'Auriu de Bistrița' x 'Florina', au fost testați un total de 187 de hibrizi din care 84 au moștenit gena de rezistență *Rvi6* (*Vf*). Următoarea combinație hibridă testată a fost 'Jonathan' x 'Florina' cu un număr de șapte hibrizi dintre care patru prezintă gena de ineteres. Din cadrul combinației hibride 'Golden delicious' x 'Florina', un număr total de 14 hibrizi au fost testați, dintre aceștia, doar trei hibrizi au moștenit gena de rezistență *Rvi6*. În cazul combinației hibride 'Starkrimson' x 'Florina', un număr total de 49 plante descendente hibride testate. Dintre acestea, mai mult de jumătate (29 hibrizi) au prezentat. Ultima combinație hibridă testată a fost 'Idared' x 'Florina'. Un total de 31 de hibrizi au fost testați molecular pentru identificarea genei *Rvi6* (*Vf*). Dintre aceștia, 12 au moștenit gena de rezistență. Într-o reprezentare grafică situația de mai sus de prezintă în următorul mod: Cel mai mare procent provine din combinația hibridă 'Jonathan' x 'Florina' (57,1%), urmată îndeaproape de combinația hibridă 'Starkrimson' x 'Florina' (51,1%). La polul opus, cu cel mai mic procent de hibrizi care au moștenit gena *Rvi6* (*Vf*), a fost găsit în combinația hibridă 'Golden delicious' x 'Florina' (21,4%).

Din cadrul combinațiilor unde sursa de rezistență a provenit de la genitorul matern ('Salva') s-au obținut următoarele rezultate: la combinația 'Salva' x 'Auriu de Bistrița' au fost testați 12 de hibrizi, dintre aceștia șase au moștenit gena de rezistență *Rvi6* (*Vf*); la combinația hibridă 'Salva' x 'Jonathan', un număr de 67 de hibrizi au fost testați, dintre aceștia, 24 de hibrizi au prezentat gena *Rvi6* (*Vf*); la combinația hibridă 'Salva' x 'Starkrimson' au fost testați 18 de hibrizi. Dintre aceștia, patru hibrizi au moștenit gena de rezistență *Vf*. Procentele de transmitere a acestei gene s-au încadrat între valorile 22,2% la combinația hibridă 'Salva' x 'Starkrimson' și 50,0% la combinația hibridă 'Salva' x 'Auriu de Bistrița'. Între aceste două valori se situează procentul de 35,8% obținut la combinația 'Salva' x 'Jonathan'.

Rezultate și concluzii privind Experiența 2 (identificarea genelor *Rvi2* și *Rvi5*)

În cadrul acestei experiențe au fost testați un număr total de 165 de hibrizi în vederea identificării celor două gene majore *Rvi2* (*Vh2*) și *Rvi5* (*Vm*). Aceștia provin din cadrul a șase combinații hibride: 'Auriu de Bistrița' x 'Florina', 'Jonathan' x 'Florina', 'Golden delicious' x Florina, 'Starkrimson' x 'Florina' 'Idared' x 'Florina' și 'Jonathan' x 'Salva'.

Din cadrul combinației hibride 'Auriu de Bistrița' x 'Florina' au fost testați un număr de 78 de hibrizi. Gena *Rvi2* (*Vh2*) s-a transmis la 49 de hibrizi, iar gena *Rvi5* (*Vm*) la doar 14 hibrizi. Din cazul combinației 'Golden delicious' x 'Florina' au fost testați trei hibrizi. Gena *Rvi2* (*Vh2*) s-a identificat doar la doi hibrizi, iar gena *Rvi5* (*Vm*) nu s-a

putut identifica într-un câmp nu s-au obținut amplificări. Din combinația hibridă 'Starkrimson' x 'Florina' s-au testat 46 de hibrizi, dintre care 37 de hibrizi au moștenit gena *Rvi2* (*Vh2*) și 28 de hibrizi au moștenit gena *Rvi5* (*Vm*). La combinația hibridă 'Idared' x 'Florina' 11 hibrizi au fost testați, dintre aceștia doar un hibrid a moștenit gena *Rvi2* (*Vh2*), respectiv cinci gena *Rvi5* (*Vm*). La combinația hibridă 'Salva' x 'Jonathan' s-au testat 23 de hibrizi, 12 au moștenit gena *Rvi2* (*Vh2*) respectiv 13 hibrizi gena *Rvi5* (*Vm*).

Procentul hibrizilor care au moștenit cele două gene de rezistență au variat în funcție de genă respectiv combinația hibridă. Astfel, gena *Rvi2* (*Vh2*) a fost transmisă în intervalul valorilor 80,4% ('Starkrimson' x 'Florina'), urmată de combinația Golden delicious x 'Florina' (66,7%), iar la polul opus s-a clasat cu 9,1% combinația 'Idared' x 'Florina'.

În cazul genei *Rvi5* (*Vm*) procentele au fost încadrate între valorile 60,9% ('Starkrimson' x 'Florina'), iar cel mai mic procent a obținut combinația hibridă 'Auriu de Bistrița' x 'Florina' (17,9%).

S-a constatat că procentul cel mai mare de hibrizi care au ambele gene de rezistență în genomul lor s-a întâlnit la combinația hibridă 'Starkrimson' x 'Florina' (60,9%), iar pe ultimul loc în acest caz s-a situat combinația hibridă 'Auriu de Bistrița' x 'Florina' (16,7%).

STUDIUL 4 - ÎNFIINȚAREA CÂMPULUI DE HIBRIZI DE MĂR

Scopul studiului

Scopul acestui studiu este de a continua selecția hibrizilor de măr, vizând evaluarea comportamentului acestora la atacul de rapăn în condiții naturale de infecție. De asemenea, se monitorizează procesele de fructificare și calitatea fructelor obținute.

Materiale și metode utilizate în cadrul Studiului 4 - Înființarea câmpului de hibrizi

Înființarea câmpului de hibrizi este etapa imediat următoare selecției primare a plantelor descendente hibride rezultate în urma polenizărilor artificiale.

Plantarea a avut loc în primăvara anului 2023 (pentru hibrizii proveniți din polenizările cu soiul 'Florina' utilizat ca genitor patern respectiv pentru cei proveniți din hibridările cu 'Salva' utilizat ca genitor matern) dar și în primăvara anului 2024 (pentru cei proveniți din polenizările cu soiul 'Generos' utilizat ca genitor patern respectiv matern)

Rezultate și concluzii privind studiul 4 – Înfăințarea câmpului de hibrizi

În urma primei etape de selecție, au fost plantați pe teren un total de 490 de hibrizi de măr obținuți din 15 combinații hibride. Astfel, s-a constatat existența a cinci tipuri de combinații din care provin hibrizii. Cel mai mare număr de hibrizi (194) și cele mai multe combinații hibride (6) aparțin categoriei sensibil x rezistent. În acest caz, genitorii materni ('Jonathan', 'Golden Delicious', 'Starkrimson', 'Idared') sunt sensibili la rapăn, iar genitorii paterni ('Florina', 'Generos') sunt rezistenți la rapăn. Următoarea categorie, în funcție de numărul de hibrizi (111), este tolerant x rezistent, iar din punct de vedere al numărului de combinații hibride (94), se află categoria rezistent x sensibil. Pentru a obținere rezultate preliminare în vederea comportării hibrizilor la atacul de rapăn, s-au realizat studii încă din primul an de plantare în câmpul de hibrizi.

Prin urmare, cea mai mare rată de infecție a frunzelor a fost observată în combinația 'Idared' x 'Florina' (76,9%) din hibrizi, urmată de combinația hibridă 'Starkrimson' x 'Florina' (40,9%). Cel mai mic procent de hibrizi infectați cu rapăn au fost la combinația hibridă 'Auriu de Bistrița' x 'Florina' (38,1%).

În cazul combinațiilor hibride cu soiul 'Salva' utilizat ca genitor matern, toate cele trei combinații hibride au un anumit procent cu plante infectate. Combinația hibridă cu cel mai mic procent cu plante infectate a fost 'Salva' x 'Auriu de Bistrița' (16,7%). La polul opus se situează combinația hibridă 'Salva' x 'Jonathan' (30,4%).

Din totalul hibrizilor plantați în câmpul de selecție, 40,5% (plantele descendente hibride provenite din combinațiile cu soiul 'Florina'-genitor patern) respectiv 27,3% (plantele descendente hibride provenite din combinațiile cu soiul 'Salva'-genitor matern) au fost infectați cu rapănul mărului.

Se poate observa că în cazul ambelor combinații hibride, la care genitorul matern este 'Auriu de Bistrița' s-a raportat cel mai mic procent de hibrizi infectați. Acest lucru poate fi explicat prin faptul că genitorul matern ('Auriu de Bistrița') este cunoscut pentru toleranța sa la infecțiile cu rapănul mărului, iar astfel există posibilitatea ca aceasta să o transmită parțial în descendență (Bivolariu *et al.*, 2021).

CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE TEZEI

Teza de doctorat abordează un subiect important în ameliorarea mărului, oferind contribuții inovative care răspund cerințelor actuale de obținere a unor soiuri rezistente la rapăn, o boală extrem de păgubitoare din punct de vedere economic, cauzată de ciuperca *Venturia inaequalis*. Prima parte a tezei de doctorat se concentrează pe o revizuire actualizată a literaturii de specialitate despre rapăn și utilizarea markerilor moleculari în ameliorarea mărului, constituind astfel o bază solidă pentru programele de ameliorare a mărului.

O parte importantă a cercetării a reprezentat-o identificarea celor mai potriviți genitori pentru programul de ameliorare al mărului. Au fost studiate peste 20 de soiuri, autohtone și străine, cu caracteristici fenotipice și genotipice relevante, precum prezența genelor de rezistență la rapăn. Aceasta permite obținerea de hibrizi cu rezistență la boli respectiv fructe de calitate superioară. Printre soiurile remarcabile se numără ‘Auriu de Bistrița’, ‘Salva’, ‘Bistrițean’, ‘Generos’, ‘Florina’, ‘Idared’, ‘Golden Delicious’, ‘Starkrimson’, ‘Jonathan’ și ‘Williams Pride’.

În egală măsură, studiul explorează importanța polenizării artificiale, care contribuie la obținerea unor semințe hibride viabile. Un exemplu notabil a fost soiul ‘Auriu de Bistrița’, care, deși un urmaș al soiului ‘Golden Delicious’, a avut rezultate bune în polenizările artificiale.

Un alt aspect inovator al cercetării este piramidarea genelor de rezistență *Rvi2* (*Vh2*), *Rvi5* (*Vm*) și *Rvi6* (*Vf*) într-un singur genotip, ceea ce reprezintă un pas important în îmbunătățirea rezistenței la rapăn. Rezultatele acestui studiu contribuie semnificativ la crearea unor soiuri noi de măr cu caracteristici superioare celor existente.

Obținerea unei baze genetice solide, care include aproximativ 500 de plante descendente hibride, reprezintă o contribuție esențială a cercetărilor din cadrul tezie de doctorat. De asemenea, pentru SCDP Bistrița, o realizare importantă a fost utilizarea metodei MAS (Marker-Assisted Selection) pentru identificarea plantelor cu gene de rezistență la rapăn. Acest program de ameliorare a mărului aduce noi rezultate și umple un gol în domeniu, deoarece în ultimii 15 de ani nu au fost obținute elite noi pentru obținerea unui soi performant în zona Bistrița.

Hibridii obținuți în cadrul cercetării răspund cerințelor actuale și pot reprezenta o bază importantă pentru viitoare studii în domeniu. Teza a favorizat, de asemenea, cooperarea între mai multe instituții de profil, precum SCDP Bistrița, USAMV Cluj și ICDP Pitești Mărăcineni, iar o parte din rezultate sunt incluse în Ghidul „Eficientizarea ameliorării genetice a soiurilor de pomi și arbuști fructiferi”. Rezultatele cercetării au un caracter național și internațional, având în vedere importanța globală a problemei rezistenței mărului la rapăn, o boală prezentă în toate regiunile unde se cultivă genul *Malus*.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Afunian, M. R., Goodwin, P. H. & Hunter, D. M. 2004. Linkage of *Vfa4* in *Malus x domestica* and *Malus floribunda* with *Vf* resistance to the apple scab pathogen *Venturia inaequalis*. Plant Pathology. 53(4):461-467.
2. Bivolariu, G., Zagrai, I., Zagrai, L., Cordea, M.I., & Moldovan C. (2021). Molecular Screening of Some Apple Progenies for Detection *Vf* Gene Using Marker Assisted Selection. Bulletin of

- University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulture, 78, 36-40.
3. Bus, V. G. M., Rikkerink, E. H. A., Van de Weg, W. E., Rusholme, R. L., Gardiner, S. E., Bassett, H. C.M., ... & Plummer, K.M. (2005a). The *Vh2* and *Vh4* scab resistance genes in two differential hosts derived from Russian apple R12740-7A map to the same linkage group of apple. *Molecular Breeding*, 15, 103-116.
 4. Cheng, F. S., Weeden, N. F., Brown, S. K., Aldwinckle, H. S., Gardiner, S. E., & Bus, V. G. (1998). Development of a DNA marker for *Vm*, a gene conferring resistance to apple scab. *Genome*, 41(2), 208-214.
 5. Höfer, M., Flachowsky, H., Schröpfer, S., Peil, A. (2021). Evaluation of Scab and Mildew Resistance in the Gene Bank Collection of Apples in Dresden-Pillnitz. *Plants*, 10, 1227.
 6. Khajuria, Y. P., Kaul, S., Wani, A. A. & Dhar, M. K. (2018). Genetics of resistance in apple against *Venturia inaequalis* (Wint.) Cke. *Tree genetics & genomes*, 14, 1-20.
 7. Tartarini, S., Gianfranceschi, L., Sansavini, S. (1999). Development of reliable PCR markers for the selection of the *Vf* gene conferring scab resistance in apple. *Plant Breed.* 118:183-6.