

---

TEZA DE DOCTORAT

**STUDIUL VARIABILITĂȚII CARACTERELOR  
CALITATIVE ȘI CANTITATIVE DIN CADRUL  
UNEI COLECȚII DE CULTIVARE DE TRIFOI  
ROȘU (*TRIFOLIUM PRATENSE* L.)**

(REZUMAT AL TEZEI DE DOCTORAT)

---

Doctorand: **Alexandru-Daniel Costin**

---

Conducător de doctorat: **Prof. univ. dr. Leon Muntean**





## INTRODUCERE

Trifoiul roșu (*Trifolium pratense* L.) este considerat una dintre principalele specii domesticate din cadrul familiei *Fabaceae*, fiind cultivat încă din secolul al III-lea î.Hr. ca sursă principală pentru producerea furajelor de calitate și mai târziu pentru utilizări în medicina tradițională datorită proprietăților lui medicinale.

Având în vedere rolul său esențial atât în nutriția animalelor, cât și în medicina umană, programele de ameliorare ale trifoiului roșu urmăresc, în primul rând, creșterea masei vegetale (Muntean, 2002) și îmbunătățirea producției de inflorescențe, datorită valorii melifere și terapeutice. Pe lângă importanța de bază în furajarea animalelor și în medicină, trifoiul roșu contribuie semnificativ și la îmbunătățirea solului cu azot (Watson & Stoddard, 2017; Petrauskas *et al.*, 2023), datorită formării unor conexiuni sau simbioze cu microorganisme din sol (ex: bacterii din genul *Rhizobium*) care au capacitatea de a fixa azotul atmosferic (Vasiljević *et al.*, 2022). Astfel, trifoiul roșu se remarcă printr-o importanță deosebită, atât din punct de vedere agronomic, cât și ecologic și medical.

## STRUCTURA TEZEI DE DOCTORAT

Teza de doctorat cu titlul “**Studiul variabilității caracterelor calitative și cantitative din cadrul unei colecții de cultivare de trifoi roșu (*Trifolium pratense* L.)**” însumează un număr de 143 de pagini, fiind structurată în două părți principale care cuprind 14 capitole, 62 figuri, 30 tabele și 242 de referințe bibliografice. **Prima parte** a tezei oferă o sinteză a stadiului actual al cunoașterii privind trifoiul roșu și este structurată în trei capitole, care cuprind 28 pagini (25,0%). **A doua parte** a tezei, dedicată contribuției personale, cuprinde rezultatele cercetărilor experimentale și are o întindere de 84 de pagini (75,0%), fiind organizată în unsprezece capitole.

### 1. STUDIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII:

Cuprinde primele trei capitole ale tezei în care sunt prezentate generalități și origine, particularitățile biologice și genetice, împreună cu compoziția chimică și utilizările trifoiului roșu.

### 2. CONTRIBUȚIA PERSONALĂ:

Cuprinde restul de 11 capitole în care sunt prezentate scopul și obiectivele lucrării, cadrul natural al cercetării, variabilitatea caracterelor morfologice ale trifoiului roșu, productivitatea acestuia, calitatea furajeră și medicinală, interrelațiile dintre parametrii de producție și calitate și analiza PCA, diversitatea genotipică și activitatea micoriziană a acestei plante. Această parte a tezei mai cuprinde și capitolul de concluzii și recomandări dar și capitolul cu originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei.

## SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII

Această teză de doctorat a avut ca scop evaluarea variabilității fenotipice și genotipice a unei colecții de genotipuri de trifoi roșu (*Trifolium pratense* L.), în vederea identificării unor potențiali genitori valoroși pentru programele de ameliorare orientate spre obținerea de noi cultivare cu productivitate ridicată, calitate furajeră și potențial terapeutic superior.

Pentru realizarea acestui scop au fost stabilite următoarele obiective:

1. Caracterizarea fenotipică a colecției de trifoi roșu din cadrul USAMV Cluj-Napoca - caracteristici morfologice, productivitate, parametrii de calitate furajeră și medicinală;
2. Analiza interrelațiilor dintre elementele componente ale producției și însușirile de calitate, cu ajutorul corelațiilor;
3. Studiarea stabilității caracteristicilor de calitate și a elementelor de producție, precum și identificarea cultivarelor cu cea mai bună perenitate;
4. Identificarea principalelor direcții de variație în cadrul caracteristicilor de producție și calitate prin intermediul analizei PCA;
5. Caracterizarea genotipică a colecției de trifoi roșu din cadrul USAMV Cluj-Napoca cu ajutorul markerilor moleculari SSR;
6. Determinarea activității micoriziene a trifoiului roșu.

### STUDIUL 1 - VARIABILITATEA CARACTERELOR MORFOLOGICE ALE TRIFOIULUI ROȘU

**Introducere:** Caracterele morfologice ale trifoiului roșu sunt esențiale pentru identificarea și evaluarea speciei, iar aceste trăsături variază în funcție de condițiile de mediu, cultivar și tipul de cultură. Din cadrul acestor caractere fac parte: talia plantelor, dimensiunile foliolelor, numărul de lăstari/plantă și cel de ramificații/lăstar.

**Studiul a avut ca scop** evaluarea și identificarea cultivarelor superioare de trifoi roșu din punct de vedere al caracterelor morfologice, în vederea selecției acestora pentru obținerea unor noi cultivare cu trăsături îmbunătățite, adecvate introducerii în cultură.

**Materiale și metode:** Pentru analiza caracteristicilor de morfologie, au fost testate 90 de cultivare de trifoi roșu (70 diploide și 20 tetraploide) provenite atât din România cât și din alte țări europene și americane, pe parcursul a doi ani experimentali (2022 și 2023). Determinările au fost realizate în câmp cu ajutorul unei rulete pentru: talia plantei (cm), lungimea și lățimea foliolelor (cm), numărul de lăstari pe plantă și numărul de ramificații pe lăstar.

**Rezultate și concluzii:** În urma analizelor efectuate, s-a observat că în anul doi de vegetație, tetraploizii au prezentat o talie mai mare, comparativ cu diploizii (ex. Corvus), însă în anul trei diploizii au depășit tetraploizii, evidențiind diminuarea progresivă a vigorii tetraploizilor după al doilea an. Deși condițiile climatice au fost favorabile în anul

trei (an mai ploios), talia plantelor a fost mai redusă față de anul doi, fenomen atribuit îmbătrânirii plantelor. Lungimea foliolelor a avut valori apropiate între cele două categorii, tetraploizii înregistrând, valori mai mari, la cultivare precum Ilte și Magura, care s-au menținut constante în ambii ani. Lățimea foliolelor a fost mai mare la tetraploizi în anul doi, cu o valoare extremă la cultivarul tetraploid Ilte și mai scăzută în anul trei, comparativ cu diploizii. Numărul de lăstari pe plantă și numărul de ramificații pe lăstar au avut valori similare între diploizi și tetraploizi, în anul doi, tetraploizii au prezentat valori mai ridicate (ex. Sadunai), însă în anul trei diploizii au depășit tetraploizii, ca urmare a diminuării progresive a vigorii tetraploizilor. Rezultate similare pentru caracterele morfologice, au fost obținute și în cadrul altor studii, unde tetraploizii au prezentat valori mai mari comparativ cu diploizii (Muntean, 2008; Vasiljević *et al.*, 2022), confirmând dezvoltarea mai bună a tetraploizilor.

Ca variabilitate a caracterelor morfologice, atât diploizii cât și tetraploizii au prezentat o variabilitate medie pentru talia plantelor și lățimea foliolei, fapt ce permite identificarea unor genitori pentru ameliorarea plantelor.

În concluzie, analiza morfologică a evidențiat că, în al doilea an de vegetație, cultivarele tetraploide au înregistrat valori mai ridicate pentru talia plantelor, lățimea foliolei, numărul de lăstari pe plantă și numărul de ramificații pe lăstar, comparativ cu cele diploide, datorită vigorii inițiale mai mari pe care au deținut-o, în timp ce în al treilea an, diploizii, datorită unei perenități mai bune, au prezentat valori superioare pentru majoritatea caracterelor, în raport cu tetraploizii.

## STUDIUL 2 – PRODUCTIVITATEA TRIFOIULUI ROȘU

**Introducere:** Producția de trifoi roșu reprezintă un factor esențial în asigurarea unei surse sustenabile de hrană pentru animale, fiind un element cheie în alimentația acestora. Printre aspectele importante ale producției se numără cantitatea de masă verde și de fân obținută, dar și greutatea capitulelor pe plantă.

**Studiul a avut ca scop** evaluarea și identificarea cultivarelor de trifoi roșu cu potențial de producție ridicat, în vederea selecției acestora ca material genetic pentru obținerea unor noi cultivare cu producții superioare.

**Materiale și metode:** Pentru analiza productivității, a fost măsurată în câmp cu ajutorul unui cântar de mână, cantitatea de masă vegetală verde (kg/m<sup>2</sup>). Valorile pentru masa vegetală verde, au fost transformate mai apoi din kg/m<sup>2</sup> în t/ha (1 kg/m<sup>2</sup> = 10 t/ha). De asemenea, s-au cântărit capitulele de trifoi roșu, raportând greutatea în grame, pe plantă. Pentru determinarea cantității de masă vegetală uscată (fân), s-a utilizat raportul de 4:1 între masa vegetală verde și masa uscată, conform literaturii de specialitate (Resmeriță *et al.*, 1973), pentru plante în stadiul de înflorire de aproximativ 50%.

**Rezultate și concluzii:** În urma analizelor s-a observat că, în anul doi de vegetație tetraploizii au înregistrat o productivitate mai ridicată, exprimată prin valori superioare ale masei vegetale verzi și uscate, datorită structurii genetice care a favorizat procesele

de creștere și dezvoltare. În anul trei, diploizii au depășit tetraploizii, ca urmare a diminuării vigorii tetraploizilor. În ambii ani au fost identificate cultivare diploide cu valori extreme scăzute, ale producției, respectiv Gandalf în anul doi și Marieta în anul trei, atât pentru masa vegetală verde, cât și pentru masa vegetală uscată. Pentru greutatea capitulelor pe plantă, tetraploizii au prezentat valori mai mari în ambii ani experimentali, diploizii având inflorescențe de dimensiuni mai reduse. Productivitatea mai ridicată a tetraploizilor este susținută și de studii din literatura de specialitate (Muntean, 2002; Muntean, 2008; Liatukas & Bukauskaitė, 2012).

În ceea ce privește variabilitatea caracterelor de productivitate, atât diploizii cât și tetraploizii au prezentat valori medii și mari a coeficientului de variabilitate, aspect util în selecția genitorilor pentru programele de ameliorare.

În concluzie, în al doilea an de vegetație, caracterizat de precipitații scăzute și temperaturi ridicate, tetraploizii au înregistrat valori superioare pentru masa vegetală verde și uscată, precum și pentru greutatea capitulelor pe plantă, iar în anul trei, caracterizat prin precipitații ridicate și temperaturi ridicate, diploizii au prezentat producții mai mari de masă vegetală, ca urmare a unei perenități mai bune.

### STUDIUL 3 – CALITATEA FURAJERĂ A TRIFOIULUI ROȘU

**Introducere:** Caracterile chimice ale trifoiului roșu, cum ar fi conținutul de proteină, ADF și NDF, sunt esențiale pentru evaluarea valorii nutriționale și pot influența semnificativ calitatea furajelor utilizate în alimentația animalelor.

**Studiul a avut ca scop** evaluarea și identificarea cultivarelor de trifoi roșu cu valori ridicate ale conținutului de proteină și valori scăzute ale ADF și NDF, în vederea selecției celor mai performanți genitori, pentru obținerea de noi cultivare.

**Materiale și metode:** Pentru analiza calității furajere, s-a utilizat material vegetal recoltat în anul doi de vegetație din toate cele 90 de cultivare studiate. Conținutul de proteină a fost determinat prin metoda Kjeldahl, adaptată după Dhont & Vanden Berghe (2003a), pentru toate cultivarele. Pentru o evaluare mai detaliată a profilului chimic, s-a realizat o a doua analiză, care a inclus două caractere: ADF și NDF, utilizând metoda Van Soest (Dhont & Vanden Berghe, 2003b). În baza valorilor ridicate de proteină, au fost selectate pentru această analiză suplimentară cinci diploizi și cinci tetraploizi. Conținutul de proteină (% s.u.) a fost transformat în t/ha prin înmulțirea procentului determinat prin metoda Kjeldahl cu producția de substanță uscată (t/ha).

**Rezultate și concluzii:** Cultivarele tetraploide de trifoi roșu au prezentat un conținut mai ridicat de proteină comparativ cu cele diploide, datorită aparatului fotosintetic mai bine dezvoltat și a unui raport frunze/tulpini mai favorabil, frunzele având un conținut proteic superior tulpinilor. Cele mai scăzute valori ale conținutului proteic au fost înregistrate la cultivarele Gandalf (diploid) și Lars (tetraploid), ambele de origine norvegiană. Tendința unui conținut proteic mai ridicat la tetraploizi este susținută și de literatura de specialitate (Drobná & Jančovič, 2006; Marković et al., 2022). În ceea ce

privește fracțiunile de fibre, diploizii au înregistrat valori mai mari ale NDF și ADF comparativ cu tetraploizii.

Cele trei elemente de calitate furajeră, proteina, ADF și NDF, ale tetraploizilor, au înregistrat valori mari ale coeficientului de variabilitate sugerând o interacțiune genotip-mediu mai accentuată, aspect cu importanță în identificarea materialului parental pentru ameliorare. În cazul diploizilor, s-a observat o variabilitate mare pentru proteină și medie pentru ADF și NDF.

În concluzie, analiza elementelor de calitate furajeră a arătat că, tetraploizii au înregistrat valori mai ridicate pentru conținutul în proteină și valori mai scăzute pentru conținutul în ADF și NDF, comparativ cu diploizii, obținându-se astfel din tetraploizi, un furaj de calitate.

#### STUDIUL 4 – CALITATEA MEDICINALĂ A TRIFOIULUI ROȘU

**Introducere:** Caracterile chimice ale trifoiului roșu, în special conținutul de flavonoide și polifenoli, sunt esențiale pentru evaluarea calității medicinale a plantei. Datorită proprietăților antioxidante, aceste substanțe contribuie la protecția celulelor împotriva stresului oxidativ.

**Studiul a avut ca scop** evaluarea și identificarea cultivarelor de trifoi roșu cu valori superioare ale conținutului de flavonoide și polifenoli, precum și cu activitate antioxidantă ridicată, în vederea selecției cultivarelor cu un potențial terapeutic mare, utilizabile ca genitori pentru noi cultivare cu proprietăți medicinale îmbunătățite.

**Materiale și metode:** Pentru determinarea conținutului în flavonoide totale, polifenoli totali și pentru determinarea activității antioxidante, s-au utilizat toate cultivarele existente în colecție, folosind metodele descrise de Bunea *et al.* (2011) și anume: metoda colorimetrică pentru conținutul total de flavonoide, metoda ABTS pentru activitatea antioxidantă și metoda Folin-Ciocalteu pentru conținutul total de polifenoli, iar pentru o evaluare mai detaliată a profilului chimic, a fost realizată și analiza HPLC utilizând metoda HPLC-DAD-ESI+Compuși Fenolici. Pentru această analiză, s-a efectuat o selecție a celor mai performante 20 de cultivare (diploide și tetraploide), caracterizate de un conținut ridicat de polifenoli totali.

**Rezultate și concluzii:** În cazul flavonoidelor totale și a activității antioxidante, cultivarele diploide au înregistrat valori mai ridicate decât cele tetraploide, cu valori extreme pentru flavonoide la cultivarele AberClaret, Callisto (C2) și Radviliei. Dintre tetraploizi, cu o activitate antioxidantă ridicată, s-a remarcat numai cultivarul Bivoj. Nivelurile mai ridicate de flavonoide și activitate antioxidantă la diploizi pot fi asociate unei sensibilități mai mari la stres abiotic, aceștia intensificând mecanismele de apărare împotriva factorilor stresori.

În ceea ce privește conținutul de polifenoli totali, tetraploizii au prezentat valori mai ridicate comparativ cu diploizii, efect atribuit poliploidiei, care poate amplifica expresia genelor implicate în biosinteza compușilor fenolici. Dintre diploizi, cultivarele

AberClaret, Diplo și Callisto (C1) s-au remarcat printr-un conținut ridicat de polifenoli. Studiul realizat de Mikulić *et al.* (2023) asupra unor cultivare de trifoi roșu, a evidențiat diferențe semnificative în conținutul de substanțe cu potențial medicinal între cele două grade de ploidie, tetraploizii prezentând un conținut mai ridicat de polifenoli comparativ cu diploizii care au manifestat o activitate antioxidantă ridicată. Pentru compușii fenolici prezenți în extractele de trifoi roșu, tetraploizii s-au remarcat printr-un conținut ridicat în acizi hidroxibenzoici, genisteină, kaempferol și biochanină A. În schimb diploizii s-au remarcat prin valori mai mari pentru quercetină și alți flavonoli.

În ceea ce privește variabilitatea caracterelor de calitate medicinală la cultivarele studiate, atât diploizii cât și tetraploizii au prezentat o variabilitate mare pentru conținutul total de polifenoli, flavonoide și pentru activitatea antioxidantă, fapt ce permite identificarea unor genitori pentru ameliorarea plantelor.

În concluzie, în urma analizelor de calitate medicinală s-a observat că valorile cele mai ridicate pentru activitatea antioxidantă și pentru flavonoide totale au fost înregistrate la cultivarele diploide, tetraploizii prezentând valori mai ridicate față de diploizi doar pentru conținutul în polifenoli totali.

## STUDIUL 5 - INTERRELAȚIILE DINTRE PARAMETRII DE PRODUCȚIE ȘI CALITATE LA TRIFOIUL ROȘU ȘI ANALIZA PCA

**Introducere:** Parametrii de producție și calitate ai trifoiului roșu sunt factori determinanți în evaluarea potențialului agronomic al speciei, influența lor fiind strâns legată de condițiile de mediu, cultivar și tehnologiile de cultivare utilizate. Aplicarea unor metode statistice multivariate, precum corelațiile și analiza componentelor principale (PCA), permite descrierea integrată a interrelațiilor dintre caracterele morfologice, de productivitate și calitate prin identificarea combinațiilor de caractere, relevante pentru optimizarea strategiilor de cultivare și pentru programele de ameliorare la trifoiul roșu.

**Studiul a avut ca scop** analiza integrată a relațiilor dintre aspectele morfologice și valoarea furajeră și medicinală ale trifoiului roșu, în cadrul unei colecții de 90 de cultivare diploide și tetraploide. Pentru atingerea acestui scop s-au urmărit următoarele obiective:

- 1) evidențierea legăturilor dintre morfologia plantei, elementele de productivitate și indicii de calitate furajeră și medicinală;
- 2) compararea modului în care aceste relații s-au manifestat în funcție de ploidie;
- 3) identificarea cultivarelor cu profil combinat favorabil (producție ridicată asociată cu indicatori superiori de calitate), care pot fi utilizate ca genitori.

**Materiale și metode:** În vederea determinării legăturilor semnificative dintre caracteristicile studiate pe cele două grade de ploidie, s-au utilizat corelațiile Spearman și s-au generat grafice de tip heatmap atât pentru diploizi cât și pentru tetraploizi. Analiza PCA a fost realizată pe variabilele: masa verde, masa uscată, greutatea

capitulelor/plantă, conținutul în proteină, polifenoli totali, flavonoide totale și activitatea antioxidantă, separat pentru diploizi și tetraploizi, utilizând grafice biplot.

**Rezultate și concluzii:** Atât la diploizi, cât și la tetraploizi, au fost identificate corelații pozitive semnificative între caracterele de morfologie, productivitate și calitate furajeră și medicinală, fără corelații negative. Cele mai puternice asocieri au vizat masa vegetală verde și uscată, greutatea capitulelor/plantă, conținutul în proteină și polifenolii totali, lungimea și lățimea foliolei dar și flavonoidele și polifenolii totali.

Analiza PCA a fost adecvată (Bartlett  $p < 0,001$ ; KMO=0,648) și a arătat că primele două componente principale au fost reprezentate de caractere de productivitate (masa vegetală, greutatea capitulelor) și de conținutul în polifenoli. În PCA pentru profilul furajer, PC1 (66,69%) a separat cultivarele în funcție de masa vegetală, iar PC2 (33,31%), de conținutul în proteină, cadranul stânga-jos reunind cultivarele cu profil furajer superior. Diploidul Diadem s-a evidențiat prin valori mari ale producției și proteinei. În PCA pentru calitatea medicinală, PC1 (57,26%) a transpus variația polifenolilor, flavonoidelor și greutatea capitulelor, iar PC2 (22,93%) activitatea antioxidantă. Cadranul stânga-jos a inclus cultivarele cu profil medicinal favorabil, dintre care s-au remarcat diploizii Diplo și Callisto (C1).

În concluzie, corelațiile pozitive între productivitate și calitate furajeră, cu o asociere semnificativă între masa vegetală și conținutul de polifenoli, au indicat faptul că, în general, cultivarele de trifoi roșu mai productive, au tins să aibă și un conținut mai ridicat de polifenoli.

## STUDIUL 6 – DIVERSITATEA GENOTIPICĂ A TRIFOIULUI ROȘU

**Introducere:** Analiza genetică a trifoiului roșu este esențială pentru evaluarea diversității și ameliorarea soiurilor, iar datorită reproducerii alogame, populațiile prezintă variabilitate genetică ridicată. Markerii moleculari SSR sunt utilizați pentru caracterizarea diversității, stabilirea gradului de înrudire și identificarea surselor valoroase de germoplasmă.

**Studiul a avut ca scop** analiza diversității genetice și a gradului de înrudire între cultivare de trifoi roșu cu ajutorul markerilor SSR, în vederea identificării genotipurilor distincte genetic utile ca material parental în ameliorare.

**Material și metode:** Studiul a inclus 36 de cultivare de trifoi roșu (18 diploide și 18 tetraploide) provenind din diverse zone ale Europei și Americii, selectate pentru valorile variate ale productivității și calității furajere și medicinale. Din câmp s-au recoltat frunze tinere de la mai multe plante, care s-au păstrat la congelator până la extragerea ADN-ului. Analiza SSR a utilizat opt perechi de primeri și a constatat în izolarea ADN-ului, evaluarea calității și analiza genetică a cultivarelor. Datele au fost procesate, pentru calcularea caracterelor genetice (număr/număr efectiv de alele; heterozigoția observată/așteptată; indice Nei; indice Shannon; conținutul informațional polimorfic și distanța genetică). Pe baza matricei distanțelor genetice (prin metoda UPGMA) și separat

pe baza combinației valorilor a trei caracteristici (masa vegetală, conținutul de proteină și flavonoide totale) s-au generat dendograme circulare pentru ambele grade de ploidie.

**Rezultate și concluzii:** Markerii moleculari SSR au evidențiat o diversitate genetică ridicată a trifoiului roșu, influențată de nivelul de ploidie. La diploizi, majoritatea markerilor au fost polimorfici, cu valori ridicate ale Na, Ne și PIC, doar gtrs171 și TRSSRA02B08 fiind monomorfi. La tetraploizi, Na și Ne au fost mai mari, toți markerii fiind polimorfici, iar Ha, PIC și Shannon au confirmat o diversitate mare față de diploizi.

Analiza cluster a grupat diploizii în cinci clustere unde Callisto (C2), Sepia și Diplo au avut fond genetic comun, în timp ce Kindia a fost mai izolată. Gruparea bazată pe masa vegetală, proteine și flavonoide a creat tot cinci clustere fenotipice. La tetraploizi, clusterizarea genetică a creat cinci grupuri unde Sadunai, Magura și Lars au avut fond genetic comun, în timp ce Ilte a fost mai izolat.

În concluzie, markerii moleculari SSR identificați au fost considerați adecvați pentru evaluarea diversității genetice în ambele grupe de ploidie. Analiza de tip cluster a evidențiat existența unei variabilități genetice semnificative între cultivarele diploide dar și cele tetraploide analizate, acestea fiind grupate în cinci clustere distincte. Compararea celor două tipuri de analize a arătat că apropierea genetică nu s-a reflectat întotdeauna în similaritatea caracterelor biochimice, ceea ce a sugerat influența factorilor de mediu și a mecanismelor de reglare genetică asupra expresiei fenotipice.

## STUDIUL 7 – ACTIVITATEA MICORIZIANĂ A TRIFOIULUI ROȘU

**Introducere:** Activitatea micoriziană a trifoiului roșu reprezintă un aspect important al interacțiunii dintre planta gazdă și micorizele din sol, influențând semnificativ dezvoltarea acesteia.

**Studiul a avut ca scop** analiza interacțiunilor dintre cultivarele de trifoi roșu și tipurile de micorize prezente la nivelul rădăcinii și selectarea cultivarelor cu o rezistență și o eficiență ridicată în utilizarea resurselor din sol.

**Materiale și metode:** Este alcătuit din rădăcinile a 10 cultivare diploide și 10 tetraploide. Ca selecție, au fost alese primele 5 cultivare diploide și tetraploide cu conținut ridicat în proteină și flavonoide, urmate de 5 cultivare diploide și tetraploide caracterizate de un conținut scăzut în proteină și flavonoide. Pentru determinarea prezenței micorizelor la nivelul radicular și a activității micoriziene, s-au recoltat probe din câmpul experimental în trei repetiții și s-au analizat folosind metoda descrisă de Stoian *et al.* (2022).

**Rezultate și concluzii:** Valorile cele mai ridicate ale intensității, frecvenței micorizelor și gradului de colonizare au fost înregistrate la cultivarele tetraploide. Dintre acestea, Lasang, Linus și Rezista au prezentat cele mai mari valori ale parametrilor micorizieni, însă un conținut mai scăzut de compuși biochimici. În schimb, cultivarul Bivoj s-a remarcat printr-o utilizare mai eficientă a simbiozei micoriziene, asociată cu un aport mai bun de nutrienți. Între activitatea micoriziană și caracterele de productivitate și

calitate (masa vegetală, conținutul de proteină și flavonoide) nu s-au evidențiat corelații semnificative, indiferent de gradul de ploidie.

În concluzie, rezultatele au arătat că o activitate micoriziană ridicată nu poate garanta o performanță biochimică superioară, eficiența simbiozei depinzând și de compatibilitatea specifică genotip-fung, nu doar de nivelul colonizării.

## RECOMANDĂRI

În vederea sporirii calității furajere, se recomandă ca genitori diploizii **Diadem**, **AberChianti**, **Tășnad** și tetraploizii **Bivoj**, **Vesna** și **Sigord**, caracterizați prin producții ridicate de masă furajeră și conținut superior de proteină (t/ha), în anii experimentali. Aceste cultivare au fost selectate datorită potențialului ridicat de producție și valorii nutritive superioare. Posibile încrucișări între cultivarele studiate, pentru obținerea unor descendenți performanți: Diadem × AberChianti (2n) și Bivoj × Sigord (4n).

În ceea ce privește îmbunătățirea calității medicinale, au fost identificați ca genitori valoroși diploizii **AberClaret**, **Callisto (C2)**, **Diplo** și tetraploizii **Bivoj**, **Tornado** și **Vesna**, caracterizați de o greutate mai mare a capitulelor/plantă și de niveluri ridicate de flavonoide totale/plantă. Aceste cultivare au fost alese ca genitori datorită producției ridicate de capitule și a conținutului ridicat de compuși bioactivi. Posibile încrucișări între cultivare, pentru obținerea unor descendenți cu potențial medicinal superior: Callisto (C2) × Diplo (2n) și Bivoj × Vesna (4n).

În concluzie, rezultatele obținute evidențiază existența unor surse genetice valoroase atât pentru îmbunătățirea calității furajere, cât și pentru creșterea potențialului medicinal, oferind direcții clare pentru programele de ameliorare viitoare, în funcție de obiectivul urmărit.

## CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE TEZEI

Prezenta cercetare aduce contribuții originale în domeniul ameliorării și valorificării trifoiului roșu, printr-o abordare integrată care a analizat caracterele morfologice, de producție, biochimice, genetice și micoriziene ale cultivarelor diploide și tetraploide, în condiții pedoclimatice specifice. Originalitatea studiului constă în evaluarea comparativă a celor două grade de ploidie pe parcursul a doi ani de vegetație, evidențiind vigoarea superioară a tetraploizilor și perenitatea mai bună a diploizilor.

Rezultatele au evidențiat o variabilitate ridicată a caracterelor morfologice și de productivitate, relevante pentru selecția cultivarelor adaptate la condiții de stres climatic. Analiza calității furajere și medicinale a evidențiat superioritatea tetraploizilor pentru utilizare furajeră, prin conținut proteic și digestibilitate și a diploizilor pentru utilizare medicinală, prin capacitatea de acumulare a compușilor bioactivi.

Integrarea analizelor genetice și micoriziene a arătat că intensitatea colonizării micoriziene nu este direct corelată cu performanța biochimică, iar apropierea genetică

nu reflectă întotdeauna similitudini funcționale. Prin abordarea multidisciplinară, studiul oferă o bază științifică solidă pentru strategii moderne de ameliorare și utilizare diferențiată a trifoiului roșu în agricultura durabilă.

### BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Bunea, A., Rugina, O. D., Pinteș, A. M., Sconța, Z., Bunea, C. I., & Socaciu, C. (2011). Comparative polyphenolic content and antioxidant activities of some wild and cultivated blueberries from Romania. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 39(2), 70-76. <https://doi.org/10.15835/nbha3926265>.
2. Dhont, J., & VANDEN BERGHE, E. (2003a). Proximate analysis: Crude protein. <https://aquaculture.ugent.be/Education/coursematerial/online%20courses/ATA/analysis/crudprot.htm#top>.
3. Dhont, J., & VANDEN BERGHE, E. (2003b). Proximate analysis: Van Soest fiber analysis. <https://aquaculture.ugent.be/Education/coursematerial/online%20courses/ATA/analysis/vsoest.htm>.
4. Drobná, J., & Jančovič, J. (2006). Estimation of red clover (*Trifolium pratense* L.) forage quality parameters depending on the variety, cut and growing year. *Plant Soil and Environment*, 52(10), 468.
5. Liatukas, Ž., & Bukauskaitė, J. (2012). Differences in yield of diploid and tetraploid red clover in Lithuania. *Proc. Latv. Acad. Sci. B Nat. Exact Appl. Sci.*, 66, 163-167.
6. Marković, J., Lazarević, Đ., Bekčić, F., Prijović, M., Vasić, T., Živković, S., & Štrbanović, R. (2022). Protein and carbohydrate profiles of a diploid and a tetraploid red clover cultivar. *Agricultural and Food Science*, 31(2), 104-112.
7. Mikulić, M., Atanacković Krstonošić, M., Kladar, N., Vasiljević, S., Katanski, S., Mamlić, Z., Rakić, D., & Cvejić, J. (2023). Phytochemical Composition of Different Red Clover Genotypes Based on Plant Part and Genetic Traits. *Foods*, 13(1), 103.
8. Muntean, L. (2002). Teză de doctorat: Studiul resurselor genetice de trifoi roșu (*Trifolium pratense* L.) în vederea ameliorării. pp 5-9.
9. Muntean, L. (2008). A comparative study of the variability of some morphological traits in a collection of diploid and tetraploid cultivars of red clover. In *Genetics, Plant Breeding and Seed Production, Proceedings of the 43rd Croatian and 3rd International Symposium on Agriculture, Opatija, Croatia, 18-21 February 2008*; Pospišil, M., Ed.; University of Zagreb: Zagreb, Croatia, pp. 317-321.
10. Petrauskas, G., Norkevičienė, E., & Bastruk-Hlodan, L. (2023). Genetic differentiation of red clover (*Trifolium pratense* L.) cultivars and their wild relatives. *Agriculture*, 13(5), 1008.
11. Resmeriță, I., Puia, I., Boșcaiu, N., & Csűrös, Ș. (1973). Monografia trifoiului din România, Editura Academiei Republicii Socialiste România, București, pp. 25.
12. Stoian, V., Vidican, R., Corcoz, L., & Pop-Moldovan, V. (2022). Mycorrhizal maps as a tool to explore colonization patterns and fungal strategies in the roots of festuca rubra and zea mays. *Journal of Visualized Experiments*, 186, e63599.
13. Vasiljević, S., Radinović, I., Branković, G., Krstić, S., Prodanović, S., Živanović, T., & Katanski, S. (2022). Evaluation of a diverse collection of red clover for forage quality and antioxidant activity. *BASE*, 210-223. <https://doi.org/10.25518/1780-4507.19967>.
14. Watson, C. A., & Stoddard, F. L. (2017). Perspectives on legume production and use in European agriculture. In: *Legumes in cropping systems*. CABI Publishing, Wallingford, pp 1-18.