



**Universitatea
Transilvania
din Brașov**

TEZĂ DE ABILITARE

Titlu:

**Variabilitatea genetică a arborilor și perspectivele valorificării
acesteia la diferite specii forestiere**

Domeniul: SILVICULTURĂ

Autor: Conf. Dr. Maria Alina TRUȚA

Universitatea: USAMV Cluj-Napoca

(Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară Cluj-Napoca)

BRAȘOV, 2025

CUPRINS

(A) Summary	3
(B) Realizări științifice și profesionale și planuri de evoluție și dezvoltare a carierei	5
(B-i) Realizări științifice și profesionale	5
Introducere	5
Capitol 1	10
STUDII PRIVIND VARIABILITATEA RESURSELOR GENETICE LA DIFERITE PROVENIENȚE DE LARICE	
1.1 Variabilitatea unor proveniențe de larice și răspunsul acestora la atacul de boli și dăunători	10
1.1.1 Introducere	10
1.1.2 Material și metode de cercetare	13
1.1.3 Rezultatele experimentale	16
1.1.4 Discuții	18
1.2 Studiul variabilității genetice privind markerii RAPD și SSR	20
1.2.1 Variația genetică și potențiale resurse genetice ale mai multor populații de larice din România	20
1.2.1.1 Introducere	20
1.2.1.2 Material și metode de cercetare	21
1.2.1.3 Rezultate	24
1.2.1.4 Discuții	27
1.3.1 Genotiparea SSR în diferite populații de larice	30
1.3.1.1 Introducere	30
1.3.1.2 Material și metode de cercetare	31
1.3.1.3 Rezultate	34
1.3.1.4 Discuții	39
Capitol 2	42
ANALIZA UNOR PROVENIENȚE DE BRAD CA SURSE DE SEMINȚE, ÎN FUNCȚIE DE CARACTERISTICILE SEMINȚELOR ȘI CAPACITATEA LOR DE GERMINARE	
2.1 Introducere	42
2.2 Material și metode de lucru	44
2.2.1 Locațiile geografice ale proveniențelor	44
2.2.2 Caracterizarea conurilor și semințelor de <i>A. alba</i>	46
2.2.3 Indicii de germinare analizați	47
2.2.4 Analiza datelor	48
2.3 Rezultate	48
2.3.1 Principalele caracteristici ale conurilor de brad în funcție de proveniențe	48
2.3.2 Principalele caracteristici ale semințelor în funcție de proveniențe	49
2.3.3 Germinarea semințelor de brad	50
2.4 Indicii de germinare	51
2.5 Analiza multivariată	53
2.6 Discuții	56

Capitolul 3	59
GERMINAREA SEMINTELOR ȘI DEZVOLTAREA PUIEȚILOR DE SALCÂM ÎN VEDEREA IDENTIFICĂRII UNOR RESURSE GENETICE VALOROASE	
3.1 Introducere	31
3.2 Material și metode	61
3.3 Rezultate	64
3.4 Discuții	74
(B-ii) Planuri de evoluție și dezvoltare a carierei	79
1. EVOLUȚIA PROFESIONALĂ	79
2. PROPUNERE DE DEZVOLTARE A CARIEREI PROFESIONALE, ȘTIINȚIFICE ȘI ACADEMICE	80
2.1 Dezvoltarea carierei universitare din punct de vedere didactic	81
2.2 Dezvoltarea carierei universitare din punct de vedere al activităților de cercetare științifică	85
2.3 Corelarea activității de cercetare cu cea didactică	87
(B-iii) Bibliografie	89

(A) Summary

Teza de abilitare intitulată „Variabilitatea genetică a arborilor și perspectivele valorificării acestora la diferite specii forestiere” sintetizează cele mai relevante rezultate ale activității științifice și profesionale publicate de către candidat, înainte de depunerea dosarului de abilitare și după obținerea titlului de doctor, în anul 2011. Conform ghidului CNATDCU, această lucrare prezintă succint evoluția și dezvoltarea carierei academice, științifice și profesionale, demonstrând capacitatea sa de a integra rezultatele și semnificațiile acestora. Totodată, studiul evidențiază contribuțiile personale în contextul cercetării actuale, atât la nivel național, cât și internațional, subliniind importanța, actualitatea și relevanța temelor abordate, precum și originalitatea și validitatea acestora, printr-o abordare documentată și argumentată.

Chiar dacă cercetările și realizările în silvicultură au avut un caracter științific profund, merită remarcat și caracterul practic, aplicativ, îndeosebi a cercetărilor referitoare la reconstrucția ecologică a unor suprafețe de pădure, afectate de calamități, prin tehnologii moderne, integrate gestionării durabile a pădurilor. Toate acestea conduc la creșterea biodiversității ecosistemelor forestiere prin aplicarea unor tehnologii moderne menite să asigure reușita regenerărilor mixte prin utilizarea puieților containerizați în completarea regenerărilor naturale, în scopul menținerii continuității pădurilor și gestionării durabile a acestora, cu aplicabilitate în zona de munte.

Caracterul preponderent științific al cercetărilor și realizărilor este atestat și de modul de valorificare a rezultatelor, producția științifică fiind una consistentă și de calitate prin prisma revistelor de specialitate în care au fost publicate lucrările rezultate. Astfel, rezultatele cercetărilor s-au concretizat în diferite lucrări științifice publicate în reviste indexate în baze de date academice internaționale recunoscute, de exemplu: ISI Clarivate (Web of Science), Scopus, ProQuest, EBSCO, CAB Direct etc. sau rapoarte de cercetare elaborate în cadrul proiectelor de cercetare și predate beneficiarilor.

Rezultatele cercetărilor au fost valorificate și diseminate prin prezentarea lucrărilor științifice la diverse conferințe și simpozioane, atât naționale, cât și internaționale, precum și prin publicarea acestora în volume dedicate unor manifestări științifice. Rezultatele prezentate în această teză evidențiază mai multe aspecte semnificative legate de activitatea și realizările candidatei: principalele direcții de cercetare, derulate prin granturi și/sau susținere instituțională; publicarea rezultatelor în reviste de specialitate, inclusiv de mare prestigiu din quartilele Q1 și Q2 conform ISI-WoS – SCIE (Clarivate); vizibilitatea și recunoașterea internațională a cercetărilor prin acceptarea și publicarea în reviste indexate, dar și prin citările atrase în publicații din principalele baze de date academice (ex. ISI Clarivate, Scopus).

De asemenea, cercetările au contribuit la formarea și dezvoltarea unor colective de cercetare performante, care au obținut și valorificat rezultate științifice semnificative. Echipele de cercetare includ atât tineri cercetători, cât și experți cu experiență recunoscută, având colaborări naționale și internaționale. Colectivele implicate nu se limitează la membrii instituției sau ai universităților cu profil similar, ci includ și cadre didactice și cercetători din alte universități, institute de cercetare din țară și instituții internaționale renumite pentru performanța în cercetare.

În momentul depunerii tezei de abilitare (2024), candidata are un portofoliu științific care include 17 publicații indexate în baza de date ISI Clarivate (WoS-SCIE), în jurnale cu factor de impact (IF). Performanțele academice sunt reflectate și prin indicele Hirsch (h-index) 5, care indică o influență notabilă a cercetărilor asupra comunității științifice, demonstrând relevanța și calitatea contribuțiilor științifice.

Născută într-o frumoasă zonă de munte a României (Bilbor, județul Harghita), într-o familie de silvicultori, candidata la abilitare a devenit de tânără conștientă că pădurea este vitală pentru Pământ și pentru oamenii planetei, asigurând resursele necesare vieții, reglarea climei, alimentarea bazinelor hidrografice, apă curată, dar și purificarea aerului pe care îl respirăm. Formarea profesională și academică denotă nu doar angajamentul candidatei în direcții de cercetare de interes major pentru silvicultura din țara noastră, ci și recunoașterea activității sale prin publicații în jurnale științifice de prestigiu. Aceste contribuții consolidează poziția sa în comunitatea academică, reflectând atât profunzimea expertizei, cât și capacitatea de a aborda teme inovatoare, cu impact semnificativ asupra domeniului de cercetare ‘Silvicultură’.

(B) Realizări științifice și profesionale și planuri de evoluție și dezvoltare a carierei**(B-i) Realizări științifice și profesionale****Introducere**

Teza de abilitare cu titlul **“Variabilitatea genetică a arborilor și perspectivele valorificării acestora la diferite specii forestiere”** este elaborată în conformitate cu reglementările legale în domeniu și cerințele Consiliului Național de Atestare a Titlurilor, Diplomelor și Certificatelor Universitare (CNATDCU). În acest sens, s-au respectat prevederile art. 300 alin. (2) din Legea Educației Naționale nr. 1/2011. Teza prezintă în mod argumentat realizările profesionale obținute după acordarea titlului de doctor în știință, evidențiind originalitatea și importanța contribuțiilor academice, științifice și profesionale, precum și perspectiva unei evoluții independente în cariera de cercetare și/sau universitară, precum și cerințele CNATDCU din ‘Ghidul orientativ pentru realizarea tezei de abilitare’ conform căruia: “Teza de abilitare se bazează pe rezultatele științifice publicate sau pe realizările profesionale făcute publice anterior depunerii dosarului de abilitare și ulterior obținerii titlului de doctor, făcând trimitere la respectivele publicații, sau realizări fără a fi obligatorie reproducerea lor”. De asemenea, au fost respectate toate celelalte cerințe și reglementări normative în domeniu, incluzând reglementările IOSUD a Universității Transilvania din Brașov privind susținerea tezelor de abilitare, iar structura și conținutul tezei au fost întocmite pe baza recomandărilor din ‘Ghidul orientativ pentru realizarea tezei de abilitare’ CNATDCU.

Teza de abilitare “Variabilitatea genetică a arborilor și perspectivele valorificării acestora la diferite specii forestiere” sintetizează cele mai relevante rezultate ale activității științifice și profesionale valorificate prin publicații în domeniul ‘Silvicultură’ de către candidată, anterior depunerii dosarului de abilitare și ulterior obținerii titlului de doctor, în anul 2011, în domeniul ‘Horticultură’, în genetica și ameliorarea plantelor. Acestea sunt prezentate conform ghidului CNATDCU în mod succint, în scopul indicării evoluției și dezvoltării carierei academice, științifice și profesionale, precum și a capacității de integrare a rezultatelor și semnificațiilor acestora. Totodată, abordarea problematicilor prin prisma realizărilor personale a avut în vedere stadiul actual al cercetării științifice în domeniu pe plan național și internațional, evidențiindu-se în mod argumentat și documentat, atât importanța, actualitatea și relevanța subiectelor și problematicilor urmărite, cât și originalitatea și validarea contribuțiilor personale.

Conținutul tezei este structurat conform cerințelor, după rezumatul în limba română și engleză care prezintă sinteza tezei de abilitare, fiind incluse cele trei secțiuni precizate în ghidul CNATDCU: (i) prima secțiune, în care sunt prezentate realizările științifice, profesionale și

academice, principalele tematici și direcții de cercetare; (ii) a doua secțiune, în care sunt prezentate planurile de evoluție și dezvoltare a carierei profesionale, științifice și academice, precum și direcțiile de cercetare viitoare și modalitățile de punere în practică a lor; (iii) a treia secțiune, incluzând referințele bibliografice asociate conținutului primelor două secțiuni.

Rezultatele prezentate în cadrul tezei relevă mai multe aspecte, semnificative pentru activitatea și realizările candidatei: direcțiile principale în care s-au desfășurat activitățile de cercetare, derulate pe bază de granturi și/sau susținere instituțională; validarea rezultatelor cercetării prin publicarea în reviste de specialitate prestigioase, inclusiv din quartilele Q1 și Q2, ISI-WoS – SCIE (Clarivate); vizibilitatea, actualitatea și recunoașterea cercetărilor și rezultatelor obținute prin acceptarea și publicarea în reviste indexate, precum și prin citările atrase în publicații din principalele baze de date academice și fluxul de informații științifice (ex. ISI Clarivate, Scopus); formarea și dezvoltarea unor colective de cercetare performante, în cadrul cărora s-au obținut și valorificat rezultatele cercetărilor; componența diversă a colectivelor respective, alcătuite atât din tineri cercetători (uneori studenți și masteranzi, cel mai adesea doctoranzi), cât și cercetători experimentați, cu rezultate excepționale în cercetare științifică; diversitatea colectivelor și echipelor de cercetare, din care în afara membrilor din propria instituție sau din universități cu același profil, fac parte cadre didactice sau cercetători din alte universități sau institute de cercetare din țara noastră, sau din instituții recunoscute pentru performanța cercetărilor din străinătate.

După cum s-a menționat, în teza de abilitare sunt sintetizate cele mai relevante rezultate ale activității științifice și profesionale valorificate prin publicații în domeniul ‘Silvicultură’, ulterior obținerii titlului de doctor. Acumulările din perioada doctoranturii, și ulterior cele de cadru didactic la Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară din Cluj-Napoca au constituit un fundament științific și profesional deosebit de consistent pentru continuarea cu succes a cercetărilor după susținerea tezei de doctorat în domeniul ‘Horticultură’, în genetica și ameliorarea plantelor, precum și dezvoltarea și integrarea cercetărilor în domenii interdisciplinare.

Teza de doctorat cu titlul “Studiul variabilității genetice la diferite proveniențe de larice (*Larix decidua* Mill.) din Plantajul Baci, O.S. Cluj”, susținută public la USAMV Cluj-Napoca, în anul 2011, a reprezentat un studiu complex privind variabilitatea fenotipică, genotipică și moleculară la diferite proveniențe de larice.

Prin conceperea și îndeplinirea obiectivelor propuse, precum și prin consistența și relevanța rezultatelor, teza a adus o contribuție originală și valoroasă la cunoștințele existente în domeniu, atât în România, cât și la nivel internațional, abordând subiecte actuale și de interes în genetica și ameliorarea laricelui.

Astfel, continuarea și diversificarea cercetărilor după obținerea titlului de doctor, au constituit în mod firesc o bază pentru obținerea unor noi rezultate cu impact științific și aplicativ, precum și pentru dezvoltarea profesională și evoluția carierei universitare și de cercetător.

Experiența profesională dobândită în cadrul cercetărilor care au documentat variabilitatea genetică și ameliorarea arborilor la unele specii de interes forestier, inițiate în timpul doctoranturii, au deschis calea pentru noi abordări științifice, precum și direcții și teme de cercetare.

Dintre acestea, o parte semnificativă a cercetărilor efectuate și a valorificării rezultatelor obținute s-a concentrat pe următoarele aspecte:

- răspunsul la principalii dăunători *Coleophora laricella* Hb. (molia minieră a laricelui) și *Adelges laricis* Vall. (păduchele lănos);

- utilizarea markerilor genetici (SSR, RAPD), au condus la identificarea unui polimorfism molecular larg, care ilustrează că originile geografice pot constitui o sursă de germoplasmă valoroasă, respectiv un fond genetic;

- evaluarea unor proveniențe de brad (*Abies alba*) ca potențiale surse de semințe, pe baza principalelor particularități morfologice ale materialului semincer și capacității de germinare a semințelor;

- utilizarea unor tratamente eficiente pentru germinarea semințelor și stimularea creșterii puieților în fază tânără la salcâm (*Robinia pseudoacacia*) și identificarea unor resurse genetice valoroase pentru producerea materialului forestier de reproducere.

Cercetările și realizările din domeniul silviculturii au avut un caracter științific, fiind important de subliniat și aplicabilitatea acestora în practică. Acest aspect este evident mai ales în cadrul cercetărilor care au vizat: reconstrucția ecologică a unor suprafețe de pădure, afectate de calamități, prin tehnologii moderne, integrate gestionării durabile a pădurilor, menite să conducă la creșterea biodiversității ecosistemelor forestiere; aplicarea unor tehnologii moderne menite să asigure reușita regenerărilor mixte prin utilizarea puieților containerizați în completarea regenerărilor naturale, în scopul menținerii continuității pădurilor și gestionării durabile a acestora, cu aplicabilitate în zona de munte; respectiv producerea containerizată a puieților forestieri și valorificarea lor ca specii ornamentale în amenajarea spațiilor verzi.

Caracterul preponderent științific al cercetărilor și realizărilor este evidențiat de modul în care au fost valorificate rezultatele, reflectat prin rezultate științifice consistente și de înaltă calitate. Lucrările rezultate au fost publicate în reviste de specialitate recunoscute, indexate în baze de date academice internaționale prestigioase, precum ISI Clarivate, Scopus, ProQuest, EBSCO, CAB Direct etc. De asemenea, rezultatele cercetărilor au fost diseminate prin

prezentarea lucrărilor științifice la conferințe și simpozioane naționale și internaționale, fiind publicate în volumele acestor evenimente sau în proceedings-uri.

Deoarece ISI Clarivate (Web of Science) rămâne o referință a recunoașterii valorii și impactului cercetării pe plan internațional, în continuare sunt prezentate lucrările publicate de către candidat în reviste indexate în această bază de date, pe baza cercetărilor efectuate și valorificate ulterior obținerii titlului de doctor (2011).

Trebuie precizat faptul că, la momentul depunerii tezei de abilitare (2024), candidata figurează cu un număr de 17 publicații în ISI Clarivate (WoS-SCIE), indicele Hirsch h-index 5. Cele 17 lucrări științifice sunt publicate după 2011 (anul obținerii titlului de doctor), dintre care, 12 în ultimii cinci ani, conform listei cu articole publicate.

Cele mai relevante articole ISI Clarivate, publicate de către candidată la abilitare, după obținerea titlului de doctor (2011).

1. **Vilcan (Truța) A.**, Tăut I., Holonec L., Mihalte L., Sestraș R.E. (2013). The variability of different larch provenances on the response to the attack of the main pests and fungal diseases. *Trees Structure and Function*. 27(3): 697-705. (IF 2012=1.900) **(Q1)** WOS: 000319015800020. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00468-012-0825-1>

2. **Vilcan (Truța) A.**, Mihalte, L., Sestras, A. F., Holonec, L., Sestras, R. E. (2017). Genetic variation and potential genetic resources of several Romanian larch populations. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 41(1), 82-91. (IF 2017=1.434) **(Q2)** WOS: 000396338300009. <https://journals.tubitak.gov.tr/agriculture/vol41/iss1/9/>

3. Gramazio, P., Plesa, I. M., **Truța, A.M.**, Sestras, A. F., Vilanova, S., Plazas, M., Vicente, O., Boscaiu, M., Prohens, J., Sestras, R. E. (2018). Highly informative SSR genotyping reveals large genetic diversity and limited differentiation in European larch (*Larix decidua*) populations from Romania. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 42(3), 165-175. (IF 2018=1.731) WOS:000433482500003. <https://journals.tubitak.gov.tr/agriculture/vol42/iss3/3/>

4. Morar, I. M., Dan, C., Sestras, R. E., Stoian-Dod, R. L., **Truța, A. M.**, Sestras, A. F., Sestras, P. (2023). Evaluation of Different Geographic Provenances of Silver Fir (*Abies alba*) as Seed Sources, Based on Seed Traits and Germination. *Forests*, 14(11), 2186. (IF 2023=2.4) **(Q1) -corresponding author**. WOS:001116452000001 <https://www.mdpi.com/1999-4907/14/11/2186>

5. Roman, A. M., **Truța, A. M.**, Morar, I. M., Viman, O., Dan, C., Sestras, A. F., Holonec, L., Boscaiu, M., Sestras, R. E. (2022). From Seed to Seedling: Influence of Seed Geographic Provenance and Germination Treatments on Reproductive Material Represented by Seedlings of *Robinia pseudoacacia*. *Sustainability*, 14(9), 5654. (IF 2022=3.889) **(Q2) - corresponding author** WOS:000794652200001. <https://www.mdpi.com/2071-1050/14/9/5654>

6. Sîngeorzan, S. M., Holonec, L., **Truța, A.M.**, Morar, I. M., Dan, C., Colișar, A., Păcurar, I. (2022). The influence of physical treatments on seed germination and seedling development of spruce (*Picea abies* [L.] Karst.). **Forests**, 13(9), 1498. (IF 2022=2.4) (Q1) - **corresponding author** WOS: 000856495700001. <https://www.mdpi.com/1999-4907/13/9/1498>
7. Holonec, R., Viman, O., Morar, I. M., Sîngeorzan, S., Scheau, C., Vlasin, H. D., Truța, P., Criveanu, H., Holonec, L., **Truța, A.M.** (2021). Non-chemical treatments to improve the seeds germination and plantlets growth of sessile oak. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, 49(3). (IF 2021=1.249) (Q3) - **corresponding author** WOS: 000704166300006. <https://www.notulaeobotanicae.ro/index.php/nbha/article/view/12401>
8. Morar, I. M., Stefan, R., Dan, C., Sestras, R.E., Truța, P., Medeleanu, M., Ranga F., Sestras P., **Truța A.M.**, Sestras, A.F. (2024). FT-IR and HPLC analysis of silver fir (*Abies alba* Mill.) bark compounds from different geographical provenances. **Heliyon**, 10(5). (IF 2024=3.4) (Q1) WOS: 001206351700001 . [https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440\(24\)02851-2](https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440(24)02851-2)
9. Socaciu, M.I., Semeniuc, C.A., Mureșan, E.A., Pușcaș, A., Tanislav, A., Ranga, F., Francisc Dulf, Emöke Páll, **Alina M. Truța**, Claudia Pașca, Daniel Severus Dezmirean, Mureșan, V. (2023). Characterization of some Fagaceae kernels nutritional composition for potential use as novel food ingredients. **Food Chemistry**, 406, 135053. (IF 2023=8.5) (Q1) WOS:000996480000001. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814622030151>
10. Hângan, I.D., Hulujan, I.B., Florian, T., **Truța, A.M.**, Oltean, I. (2024). Assessing montane grassland and butterfly biodiversity to improve management strategies in locally significant conservation areas. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, 52(2), 13794-13794. (IF 2023=1.4) (Q3) - **corresponding author** WOS: 001266853100021. <https://notulaeobotanicae.ro/index.php/nbha/article/view/13794>

Capitolul 1

STUDII PRIVIND VARIABILITATEA RESURSELOR GENETICE LA DIFERITE PROVENIENȚE DE LARICE

1.1 Variabilitatea unor proveniențe de larice și răspunsul acestora la atacul de boli și dăunători

1.1.1 Introducere

Laricele (*Larix decidua* Mill.) face parte din subîncrângătura Gymnospermae, ordinul Coniferales, familia Pinaceae, genul *Larix*. Genul *Larix* cuprinde aproximativ 10 specii de arbori răspândiți în Eurasia și America de Nord (Paques, 2000; Farjon, 2010).

În Europa, laricele are o distribuție naturală dispersată și este prezentă în patru zone geografice (Alpi, Munții Sudeți, Carpați și Polonia Centrală), unde laricele are uneori statutul de subspecie sau varietate (Biswas și Mohri, 1997; Geburek, 2010; Bauer, 2012) (Figura 1).

Prima și cea mai extinsă zonă de răspândire a speciei se află în Alpii europeni, în special în partea subalpină a Alpilor Centrali continentali, dar specia poate fi întâlnită și în alte regiuni ale Alpilor, pe un interval altitudinal variat. În Alpii de Vest, limita superioară a răspândirii este la 2300 m, iar limita inferioară variază între 1300 m în sud-vest și 450 m în nord-vest. În Alpii de Est, distribuția se concentrează la altitudini mai mici, având un climat mai umed. Limita superioară în această zonă este de 1600 m, iar limita inferioară de 300 m. Câmpiile din Europa Centrală (Boemia, Moravia și Panonia) separă zona alpină de cea carpatică, care este divizată în patru subregiuni. Prima zonă se află în estul Munților Sudeți, unde laricele crește între 300 și 800 m, urmată de câmpia poloneză, cu apariții semnificative între râurile Oder și Weichsel, la altitudini de 160-600 m. A treia zonă se regăsește în Carpații de Vest, în special în Munții Tatra, la altitudini de 600-1000 m, dar ajungând până la 1100-1300 m și în zonele adiacente ale Beskizilor, Fatrei și Munților Metaliferi. Ultima zonă cuprinde populații mici și fragmentate în Carpații Orientali (1200-1800 m), Carpații Meridionali (650-1900 m) și Munții Bihor.

Laricele european crește în principal în amestec cu alte specii, cum ar fi molidul (*Picea abies*), bradul (*Abies alba*), zâmbrul (*Pinus cembra*), jneapănul (*Pinus mugo*), pinul silvestru (*Pinus sylvestris*) sau fagul (*Fagus sylvatica*), dar poate apărea și în arborete pure.

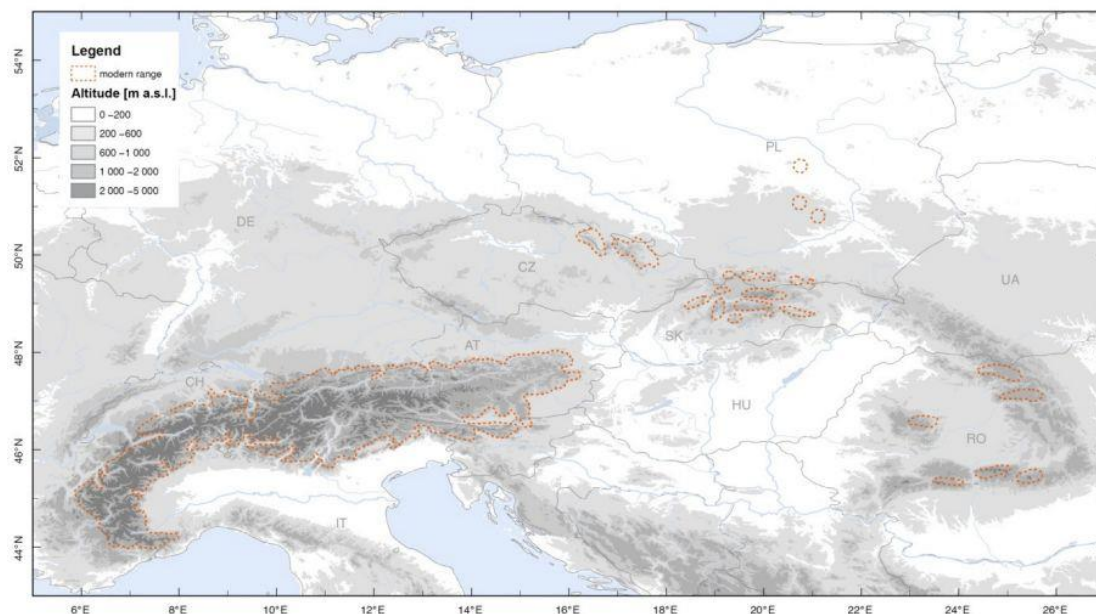


Figura 1. Distribuția naturală a laricelui (*Larix decidua*) (Wagner, 2013)

În fiecare dintre aceste zone se găsesc ecotipuri diferențiate morfologic și ecologic, considerate subspecii ale speciei *Larix decidua* (ssp. *decidua*, ssp. *sudetica*, ssp. *carpathica* și ssp. *polonica*) (Biswas și Mohri, 1997; Farjon, 2010).

În România, laricele are o arie naturală de răspândire, fiind întâlnit în cinci centre: Munții Ceahlău (altitudine de 1400-1450 m), Ciucaș (1000-1450 m), Bucegi (1200-1500 m), Munții Lotru (670-1900 m, cu o răspândire maximă în această zonă) și Munții Apuseni (600-1200 m), precum și în numeroase plantații care însumează mai mult de 200.000 ha cultivate (Matras și colab., 2008; Mihai și Teodosiu, 2009).

Populațiile de larice din România sunt izolate geografic de celelalte mari zone de distribuție naturală din Alpi și Sudeți, fiind într-o mare măsură fragmentate și situate la marginea sud-estică a distribuției sale naturale (Mihai și Teodosiu, 2009). Acest lucru face ca populațiile românești de larice să fie deosebit de sensibile la schimbările climatice (Hamrick, 2010).

Alături de molid (*Picea abies*) și brad (*Abies alba*), care sunt cele mai importante specii de arbori din Europa (Curtu și colab., 2009), laricele (*Larix decidua*) este, de asemenea, o specie reprezentativă pentru economia europeană (Wenfang și colab., 2008), datorită calității sale superioare a lemnului (Nawrot și colab., 2009), ritmului rapid de creștere (Wang și colab., 2006), productivității mari (Lukkarinen și colab., 2010) și trăsăturilor ornamentale valoroase (Nagaike și colab., 2010). Este foarte apreciat pentru proprietățile sale mecanice ale lemnului, culoarea și textura, dar și pentru durabilitatea sa naturală. Rezistența și durabilitatea îl face potrivit pentru mai multe utilizări, cum ar fi placajele, șinele de construcție, pilonii, stâlpii de susținere, etc. (Gierlinger și colab., 2004).

Pădurea, un ecosistem complex cu multiple funcții ecologice și economice, reprezintă o sursă esențială de materii prime, în special lemn. Cerințele în creștere privind producția de lemn, atât din punct de vedere cantitativ, cât și calitativ, sunt frecvent influențate de acțiunea organismelor fitopatogene și entomofage, bolile și dăunătorii constituind factori majori care afectează productivitatea și calitatea ecosistemelor forestiere.

Defectele arborilor maturi sunt, în mare parte, rezultatul leziunilor produse în diverse etape fenologice ale creșterii și dezvoltării, sub influența unor factori externi vătămători, dintre care bolile și dăunătorii au un impact predominant. Evaluarea stării de sănătate a ecosistemelor forestiere, analiza agenților patogeni, a mecanismelor de răspândire și a intensității atacurilor acestora, precum și a efectelor asupra arboretelor, reprezintă elemente esențiale pentru implementarea strategiilor eficiente de monitorizare și control al bolilor și dăunătorilor speciilor forestiere.

Starea de sănătate a speciilor forestiere (de la puiet până la arborii maturi) este frecvent afectată de o multitudine de factori biotici sau abiotici. Aceștia pot afecta îmbolnăvirea plantelor prin modificări majore ale activității fiziologice sau structurii celulare, țesuturilor sau diferitelor organe, în cazuri extreme provocând moartea prematură (uscarea).

Studiul a analizat atacul provocat de *Hypodermella laricis* Tub. (îngălbenirea acelor de larice), o boală care determină colorarea în galben a acelor, urmată de uscarea acestora. Pe acele uscate se formează peritecii dispuse într-un șir longitudinal median, iar în interiorul acelor se găsesc ascospori în formă de lacrimă. Acești ascospori pătrund în cuticula acelor tinere, iar miceliul parazitează țesuturile subepidermice sau epidermice. Pe parcursul verii, zonele afectate își schimbă culoarea, dezvoltând pete cenușii, gălbui sau brun-deschise.

La arborii din livada seminceră studiată s-a urmărit atacul a doi dăunători care atacă frunzele de larice: *Coleophora laricella* Hb. (molia minieră a acelor de larice) și *Adelges laricis* Vall. (păduchele laricelui).

Cel mai frecvent menționat dăunător este *Coleophora laricella* Hübner, (*Lepidoptera*, *Coleophoridae*), ale cărui larve consumă țesuturile acelor, cauzând defolierea și reducerea creșterii arborilor (Ermolaev și Ermolaeva, 2001). Acest dăunător, cunoscut și sub numele de molia acelor de larice, este o specie monofagă, strâns legată de genul *Larix*, apare în principal la specii precum: *L. decidua*, *L. kaempferi* și *L. laricina* (Habermann și Ott, 2009).

Coleophora laricella este răspândită în întreaga emisferă nordică (Europa, părți mari din Asia și America de Nord). A apărut inițial în zona alpină, ulterior s-a extins pe câmpiile din nord-estul Europei (Waring și O'Hara, 2005). În unele locuri, prezintă fluctuații permanente, iar în plantațiile artificiale, un focar poate dura până la 12 ani (Tabakovic-Tosic și colab., 2011). Fluturile are o anvergură a aripilor de 9-10 mm, femela fiind de dimensiuni mai mici decât

masculul. Aripile anterioare sunt mai late, de culoare cenușii-cafenii, slab lucitoare, cu franjuri puține, iar cele posterioare cenușiu-închise, înguste și cu franjuri. Larva este mică, de culoare cafenie-roșcată sau gălbuie-deschis, cu o lungime de 5 mm, capul de culoare închisă. Pupa este cafenie-negricioasă, subțire și de 4-6 mm lungime, este adăpostită într-un săculeț provenit din acul minat și retezat. Molia acelor de larice este o specie monovoltină. Iernează în stadiul de larvă în săculeții formați în acele de larice atacate. Zborul adulților are loc începând cu sfârșitul lunii mai. După eclozare, larva pătrunde în ac, îl minează și în urma atacului acele se ofilesc și în cele din urmă atacul are aspectul unei vătămări cauzate de ger. Atacul începe din partea superioară a coroanei, iar la un atac puternic larvele se lasă pe fire de mătase spre partea inferioară a coroanei. Prin luna septembrie larva taie o porțiune dintr-un ac minat făcându-și un înveliș protector, de forma unui săculeț, apoi ele se deplasează pe ramuri și tulpini și se retrage pentru iernare, în crăpăturile scoarței sau sub licheni.

Adelges laricis Vall. este o insectă de dimensiuni mici (păduche), ale cărei larve înțepă și sug seva acelor. Specia are un ciclu de dezvoltare de doi ani, desfășurat în șase generații, utilizând molidul ca gazdă principală și laricele, bradul și duglasul ca gazde secundare. Lungimea corpului este de 0,8-1,3 mm, larvele de vară înțepă și sug seva acelor de larice, în locul respectiv acestea îndoindu-se și căpătând o culoare cenușie. Generația *Sexuales* produce gale pe molid, rotunjite, de mărimea unei alune, tari, verde-mat până la galben și acoperite cu puf ceros-alburiu. Adulții generației a doua (*Alta migrans*), migrează de regulă în cursul lunii iunie sau iulie, de pe molid pe larice, unde depun ouăle pe acele de larice. La șapte zile după depunerea ouălor (care sunt protejate până la ecloziune de femelă) ies larvele care se deplasează spre baza mugurilor din anii trecuți, unde hibernează până în primăvara următoare. În prima decadă a lunii aprilie (la altitudini joase posibil și în martie) larvele trec prin vârstele L2, L3. Adultul numit *Sistens*, este o femelă partenogenetică fără aripi și depune ouăle la baza mugurilor tineri. Înainte de a depune ouăle, femelele produc o pulbere fină, albă. Cu toate acestea, unele adelgide nu alternează între gazde, completând ciclul de viață de 1 an, cu un număr redus de generații (Sano și Ozaki, 2012).

Acest studiu relațiile reciproce dintre arborii afectați de diverși dăunători și boli și a evaluat rezistența/sensibilitatea diferitelor clone de larice la atacurile principalilor boli și dăunători. Un alt scop al studiului a fost identificarea agenților patogeni sau a populațiilor de dăunători predominanți în funcție de direcția geografică (nord, sud, est, vest) și poziția în coroana arborilor (vârf, mijloc, bază).

1.1.2 Material și metode de cercetare

Materialul de studiu a fost alcătuit din clone de larice situate în plantajul Baci, O.S. Cluj. Plantajul este situat în localitatea Baci, în apropierea orașului Cluj-Napoca, în nord-vestul

României. Clonele au fost obținute printr-un program de ameliorare, prin selecție din diverse populații geografice, naturale sau artificiale din România (Figura 1.2): Gura Humorului, Valea Cetății, Săcele, Valea Popii, Sinaia (situate în nordul României), Anina și Latorița (situate în sudul României). Arborii plus, din care au fost recoltate ramurile altoi, au fost identificați în aceste populații de origine (proveniențe). Butașii vegetativi au fost altoiți pe portaltoi de larice, obținându-se clonele care reprezintă materialul biologic utilizat în acest studiu, plantate în anul 1975.

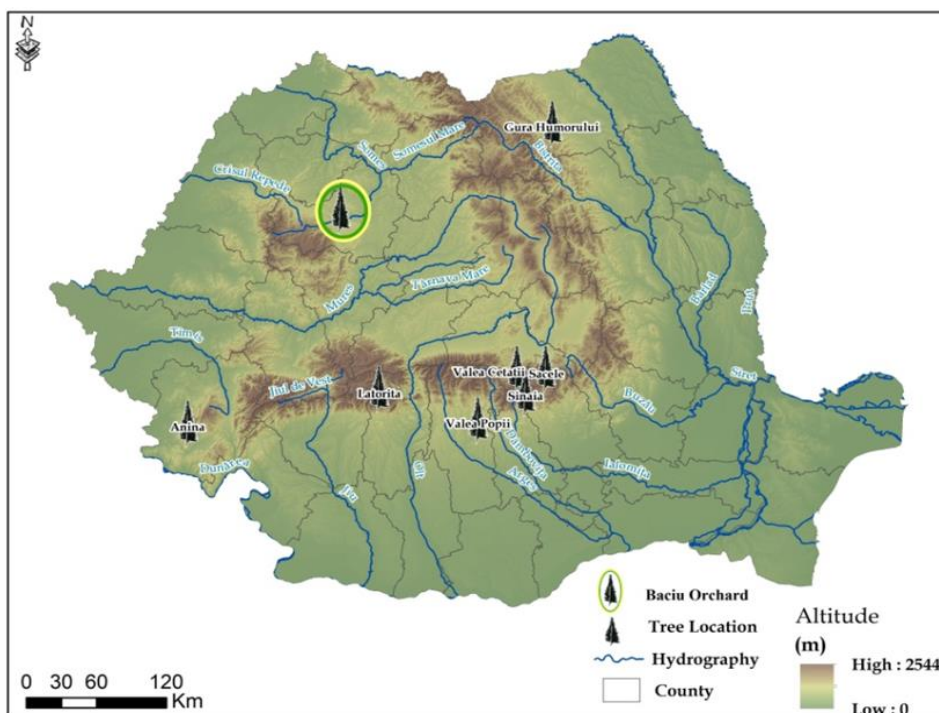


Figura 1.2. Populațiile de larice luate în studiu

Plantajul Baciș este situat la 46°80' latitudine nordică și 23°52' longitudine estică, la o altitudine medie de 357 m deasupra nivelului mării. Pe parcursul studiului au fost înregistrate următoarele condiții climatice generale: temperaturi cuprinse între -2,1 și 20,5 °C, umiditatea relativă a aerului între 46,8 și 96,1%, iar cea mai lungă durată de expunere la soare a fost în luna iulie. În aceste condiții climatice, o gamă largă de dăunători și boli atacă laricele. În perioada de studiu, cele mai frecvente atacuri analizate au fost cauzate de bolile fungice (*Hypodermella laricis*) și de insectele dăunătoare *Coleophora laricella* și *Adelges laricis*.

Bolile fungice și dăunătorii studiați

Clonele din plantaj au fost analizate folosind un design experimental randomizat în blocuri complete, metodă frecvent utilizată pentru testele clonale în câmp ale proveniențelor. Pentru a analiza răspunsul laricelui la atacurile de boli și dăunători, au fost evaluate trei grupuri (replicări)

de 30 de arbori/parcelă pentru fiecare clonă (90 de arbori/clonă). Pentru a realiza o evaluare relevantă a densității populațiilor de agenți patogeni și insecte, au fost selectate 12 ramuri/arbore (patru ramuri din treimea superioară a coroanei, patru din treimea mijlocie și patru din treimea inferioară). La fiecare nivel, ramurile au fost recoltate din toate cele patru direcții geografice (est, vest, sud, nord) (Figura 1.3).



Figura 1.3 Atacul de boli și dăunători în funcție de suprafața coroanei

Pentru a evalua răspunsul arborilor la dăunătorii studiați, a fost utilizată o scală de estimare a gradului de atac (Tabelul 1), cu un sistem de șase clase pentru evaluarea intensității atacului (Sestras și colab., 2011). Pentru a determina daunele cauzate de *C. laricella*, a fost luată în considerare etapa de omidă (larvă, din octombrie până în martie). Numărul de larve și numărul de lăstari au fost utilizați pentru a determina numărul mediu de larve pe lăstar. Ramurile selectate pentru a stabili densitatea populației de *C. laricella* au fost utilizate și pentru a stabili densitatea populației de *A. laricis*, prin raportarea numărului de adulți la numărul de lăstari (Blada, 1977).

Datele înregistrate pentru răspunsul arborilor la atacul de boli și dăunători au fost calculate ca valori medii. Diferențele obținute au fost prelucrate statistic ANOVA, utilizând media experienței ca martor. Datele au fost prezentate sub formă de medii pentru fiecare clonă.

Deoarece arborii plus au fost propagați asexuat prin altoire, rameții obținuți au moștenit același genotip ca arborele părinte (original), cunoscut sub denumirea de ortet. Cu excepția influențelor asupra interacțiunii dintre altoi și portaltoi și, eventual, a unui nivel extrem de scăzut

de mutație, toți arborii dintr-o clonă au fost considerați genetic identici, iar variația datorată diferențelor dintre clone a fost interpretată ca variație genetică totală (Matziris, 1993).

Tabelul 1

Rezultate privind gradul de atac pentru *Hypodermella laricis*, *Coleophora laricella* și *Adelges laricis*

Gradul de atac/lăstar	Numărul mediu de larve pe lăstar		Estimarea gradului de atac	Procent de defoliere (%)
<i>Hypodermella laricis</i> (valori relative) ^a	<i>Coleophora laricella</i> (valori absolute) ^b	<i>Adelges laricis</i> (valori absolute) ^b		
0	0	0	Fără atac	0
0.1–1.0	<0.12	<0.03	Foarte slab	<10
1.1–5.0	0.13–0.30	0.04–0.08	Atac slab	11–25
5.1–15.0	0.31–0.60	0.09–0.17	Atac mediu	26–50
15.1–30.0	0.61–0.90	0.18–0.25	Atac puternic	51–75
>30.1	0.91–1.20	0.26–1.33	Foarte puternic	76–100

^a Sestras și colab. (2011); ^b Blada (1977)

În acest context, variația dintre clone a fost analizată ca variație genetică, iar variația dintre arbori (replicări) ca variație de mediu. Astfel, pentru a determina proporția genetică a răspunsului acestei specii la dăunătorii studiați, s-a calculat coeficientul de heritabilitate. Heritabilitatea în sens larg a fost calculată utilizând modelul comun: $H^2 = \sigma G^2 / \sigma P^2$, unde σG^2 reprezintă variația genetică și σP^2 reprezintă variația fenotipică (Holland și colab., 2003; Piepho și Mohring, 2007; Sestras și colab., 2008).

1.1.3 Rezultatele experimentale

Răspunsul arborilor la atacul de *H. laricis*

Media rezultatelor pentru atacul de *H. laricis* la clonele de larice studiate a prezentat valori cuprinse între 3,25 și 5,67, valorile fiind înregistrate la clonele din Anina (atac slab) și Sinaia (valoarea maximă a atacului). Comparativ cu media experienței, clonele din Sinaia și Săcele au înregistrat o intensitate mare a atacului. În contrast, clonele din Anina, Gura Humorului, Latorița și Valea Cetății au prezentat o intensitate redusă a atacului (Tabelul 2).

În urma analizei intensității atacului dăunătorului în diferite părți ale coroanei arborilor (vârf, mijloc, bază), s-au observat valori similare, dar neasigurate statistic (Tabelul 3). Cele mai mari valori ale intensității atacului au fost înregistrate la baza trunchiului, cu un procent de 8,10%, indicând o susceptibilitate mai mare la atacul *H. laricis*, în comparație cu media generală a experienței (7,33%), care a fost considerată varianta martor.

În ceea ce privește poziționarea dăunătorilor în coroana arborilor, nu s-au înregistrat valori asigurate statistic, limitele au oscilat între direcția nord (5,43), care a avut cea mai mare valoare, și direcția vest (3,71), cu cea mai mică valoare, media experienței fiind de 4,50% (Tabelul 4).

Tabelul 2

Sinteza rezultatelor privind comportarea arborilor la atacul de boli și dăunători, în funcție de proveniență și semnificația diferențelor

Nr. crt.	Proveniența	$x \pm S x$ (Media și abaterile standard pentru valorile atacului) ^a		
		<i>Hypodermella laricis</i>	<i>Coleophora laricella</i>	<i>Adelges laricis</i>
1.	Latorița	3.42 ±0.67	0.0078 ±0.0014	0.1130 ±0.0205
2.	Gura Humorului	3.58 ±0.50	0.0086 ±0.0007	0.1552 ±0.0217
3.	Bv. Valea Cetății	3.92 ±0.17	0.0114 ±0.0022	0.1166 ±0.0169
4.	Săcele	5.00 ±0.92	0.0080 ±0.0013	0.1409 ±0.0074
5.	Anina	3.25 ±0.83 ^{oo}	0.0097 ±0.0004	0.1206 ±0.0130
6.	Sinaia	5.67 ±1.58 ^{xx}	0.0100 ±0.0008	0.1428 ±0.0093
7.	Bv. Valea Popii	3.75 ±0.33	0.0097 ±0.0005	0.1455 ±0.0120
Media exp. (control)		4.08	0.0092	0.1335
DL 5 %		7.09	0.0053	0.0704
DL 1 %		10.74	0.0081	0.1066
DL 0.1 %		17.26	0.0130	0.1713

x = media (media valorilor pentru *H. laricis*, *C. laricella* și *A. laricis*); $S x$ = abaterea standard în raport cu media observată

^{xx/oo} semnificativ la $p < 0,01$ (* indică pozitiv, iar ° indică negativ)

^a răspunsul laricelui la atacurile cauzate de boli și dăunători a fost evaluat pe baza scalei prezentate în Tabelul 1

Tabelul 3

Sinteza rezultatelor privind atacul de boli și dăunători în coroana arborilor (vârf, mijloc, bază) și semnificația diferențelor

Nr. crt.	Poziția în coroană	$x \pm S x$ (Media și abaterile standard pentru valorile atacului) ^a		
		<i>Hypodermella laricis</i>	<i>Coleophora laricella</i>	<i>Adelges laricis</i>
1.	Vârf	6.7143 ±0.6190	0.0102 ±0.0009	0.1393 ±0.0151
2.	Mijloc	7.1786 ±0.1548	0.0091 ±0.0002	0.1253 ±0.0010
3.	Bază	8.1071 ±0.7738	0.0087 ±0.0007	0.1081 ±0.0161
Media exp. (control)		7.33	0.0093	0.1242
DL 5 %		3.42	0.0034	0.0451
DL 1 %		6.29	0.0062	0.0828
DL 0.1 %		13.94	0.0138	0.1835

x = media (media valorilor pentru *H. laricis*, *C. laricella* și *A. laricis*); $S x$ = abaterea standard în raport cu media observată

^a răspunsul laricelui la atacurile cauzate de boli și dăunători a fost evaluat pe baza scalei prezentate în Tabelul 1

Tabelul 4

Sinteza rezultatelor privind atacul de boli și dăunători în coroana arborilor (expoziție: est, vest, sud și nord) și semnificația diferențelor

Nr. crt.	Expoziția în coroană	$x \pm S x$ (Media și abaterile standard pentru valorile atacului %) ^a		
		<i>Hypodermella laricis</i>	<i>Coleophora laricella</i>	<i>Adelges laricis</i>
1.	Est	5.00 ±0.43	0.0096 ±0.0010	0.1267 ±0.0009
2.	Vest	3.71 ±0.79	0.0096 ±0.0002	0.1264 ±0.0022
3.	Sud	3.86 ±0.64	0.0097 ±0.0003	0.1181 ±0.0061
4.	Nord	5.43 ±0.93	0.0086 ±0.0008	0.1257 ±0.0015
Media exp. (control)		4.50	0.0093	0.1242
DL 5 %		4.02	0.0025	0.0222
DL 1 %		6.65	0.0042	0.0367
DL 0.1 %		12.44	0.0079	0.0687

x = media (media valorilor pentru *H. laricis*, *C. laricella* și *A. laricis*); $S x$ = abaterea standard în raport cu media observată

^a răspunsul laricelui la atacurile cauzate de boli și dăunători a fost evaluat pe baza scalei prezentate în Tabelul 1

În ceea ce privește comportarea arborilor la insectele analizate, proveniențele de zădă luate în studiu au prezentat diferențe semnificative în rezistența atacului de *C. laricella* și *A. laricis*, în funcție de proveniență și poziția dăunătorilor în coroana arborilor. Clonele Latorița și Gura Humorului au fost mai rezistente la *C. laricella*, în timp ce Valea Cetății, Sinaia și Anina au fost mai vulnerabile. În cazul dăunătorului *A. laricis*, cele mai rezistente au fost Latorița, Valea Cetății și Anina, iar cele mai sensibile, Gura Humorului, Săcele, Sinaia și Valea Popii.

Studiul a evidențiat corelații semnificative între atacul principalilor dăunători (*Coleophora*, *Adelges*) și infestarea cu *Hypodermella*, demonstrând influența genetică puternică asupra rezistenței clonelor de larice. Heritabilitatea ridicată (0,602–0,855) indică un rol esențial al genotipului în răspunsul arborilor la boli și dăunători, impactul factorilor de mediu fiind redus (Figura 1.4). Aceste rezultate susțin posibilitatea ameliorării laricelui prin selecția unor clone genetic rezistente.

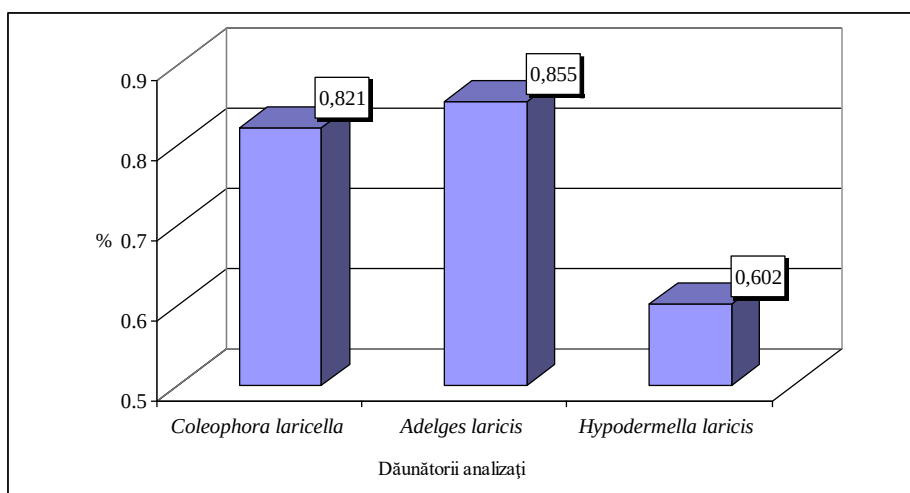


Figura 1.4 Rezultate privind heritabilitatea clonelor de zădă la boli și dăunători

1.1.4 Discuții

Hypodermella laricis pare să fie mai localizată decât alți patogeni ai acelor, este întâlnită frecvent în Alpi și în regiunile învecinate (Butin, 1995), precum și în Italia (Maresi și colab., 2004). În unele zone, acest dăunător este asociat cu prezența patogenului *Meria laricis*, iar defolierea cauzată de acești fungi ar putea fi un factor care limitează regenerarea laricelui (Krause și Raffa, 1992). Ambele boli pot fi prezente pe acele aceluiași arbore, simptomele bolii apar rapid și pot fi confundate cu daunele cauzate de îngheț. Cu toate acestea, înghețul tinde să omoare atât acele, cât și tulpinile tinere, fără a forma corpuri de fructificare (Maresi și colab., 2004).

În prezentul studiu, indiferent de poziția atacului în coroana arborelui, s-au înregistrat atacuri foarte slabe la clonele din Anina și atacuri slabe la clonele din Latorița, Gura Humorului, Valea Popii și Valea Cetății. Pe lângă clonele analizate, o intensitate mare a atacului de *H. laricis* a fost înregistrată la baza arborilor, expoziție nordică. Rehfeldt (1995) a raportat, de asemenea, că atacul de *H. laricis* este mai accentuat la baza trunchiului. *H. laricis* poate fi considerată un locuitor comun și periculos al pădurilor de larice. Atunci când nu este bine identificată cauza prezenței simultane a insectelor *C. laricella* și *A. laricis*, atacul de *H. laricis* poate fi confundat cu atacul acestor insecte (Maresi și colab. 2004). În Europa, atacul fungic a fost observat doar sporadic și pare strict asociat cu condițiile meteorologice din timpul verii și primăverii. În America de Nord (Patton și Spear, 1983; Palmer și colab., 1986), atacul de *H. laricis* este principalul factor limitativ care afectează cultivarea laricelui. Astfel, proveniența românească Anina poate fi recomandată pentru programele de ameliorare, pentru a oferi gene de rezistență împotriva atacului de *H. laricis*.

Referitor la atacul de *C. laricella*, intensități scăzute au fost înregistrate la mijlocul și baza arborilor, iar intensități ridicate s-au înregistrat la vârful coroanei, pe direcțiile punctelor cardinale est, vest și sud. Astfel, rezultatele sunt comparabile cu cele raportate de Habermann și Ott (1995), care au demonstrat o tendință de densități mai mari în partea de mijloc a coroanei laricelui.

Datele confirmă că atacul de *C. laricella* a fost foarte slab, iar Ermolaev și Ermolaeva (2001) sugerează că intensități scăzute ale infestării nu au împiedicat creșterea laricelui. Pe lângă mecanismul genetic care conferă rezistență laricelui la patogen, mortalitatea larvară depinde în principal de fiziologia acelor, care poate fi influențată de condițiile de mediu. Diferite condiții de mediu par să determine nivelurile de toleranță la hrănire ale arborilor gazdă infestați. Astfel, arborii de larice care cresc în condiții optime pot tolera defolierea periodică de către *C. laricella* (Habermann, 2000; Hodgson, 2001).

Factorii naturali de control, cum ar fi vremea, bolile acelor, prădătorii și paraziții nativi (*Agathis pumila*, *Cirrospilus pictus*, *Microtus pumilus*), contribuie la reducerea populației de *C. laricella* (Tabakovic-Tosic și colab., 2011). În contrast, Altenkirch și Winkel (1990) au arătat că populația de *C. laricella* fluctuează la intervale regulate fără efecte detectabile ale prădătorilor sau paraziților asupra dinamicii populației, iar observațiile lui Habermann (2000) au condus la presupunerea că mecanismele fiziologice de apărare ale plantei gazdă pot cauza fluctuațiile ciclice ale *C. laricella* în mediul său natural.

Patogenul *C. laricella* este unul dintre factorii limitativi semnificativi pentru selecția viitoare a laricelui european, iar Tabakovic-Tosic și colab., (2011) au arătat că, la vârsta de 18 ani, diametrul arborilor neafecțați este cu 5,3 cm mai mare decât al celor afectați. Controlul cu

succes al *C. laricella* a fost realizat prin introducerea viespilor parazitare sau utilizarea hormonilor vegetali (Meng și colab., 2011). Pentru majoritatea defoliorilor, strategia recomandată este prevenția prin tratamente silviculturale care promovează diversitatea speciilor de arbori, structurile din plantaje și densități moderate.

Clonele cele mai rezistente la atacul de *C. laricella* au fost proveniențele Latorița și Gura Humorului, care pot fi recomandate ca sursă de gene pentru programele de ameliorare a rezistenței împotriva atacului de către *C. laricella*.

1.2. Studiul variabilității genetice privind markerii RAPD și SSR

1.2.1 Variația genetică și potențiale resurse genetice ale mai multor populații de larice din Romania

1.2.1.1 Introducere

Odată cu avansarea tehnicilor de biologie moleculară bazate pe markeri ADN, au fost dezvoltate metode noi pentru identificarea relațiilor dintre specii, ceea ce a permis o înțelegere mai profundă a originii și gradului de înrudire între acestea. Descoperirea tehnicii PCR de către Mullis în 1984 (Fore și colab., 2006) a marcat un moment esențial în genetica moleculară (Rusu, 2007). Această metodă utilizează doi primeri complementari specifici capetelor 3' ale secvențelor de ADN ce urmează a fi amplificate. Tehnica se bazează pe polimorfismul alelic al formelor parentale, în ceea ce privește lungimea produsului de amplificare generat cu ajutorul acestor primeri specifici. În anul 1990 au fost introduse mai multe tehnici pentru identificarea polimorfismelor la nivelul ADN-ului, derivate din tehnica PCR. Aceste tehnici folosesc primeri cu secvență arbitrară bogată în guanină și citozină ce se leagă la întâmplare în genom, numărul produșilor de amplificare obținuți depinzând de complementaritatea primerilor cu secvențele de ADN țintă. Aceste tehnici nu necesită cunoștințe despre secvența nucleotidelor din fragmentele amplificate, deoarece amplificarea se realizează la întâmplare. Prezența sau absența unui anumit produs de amplificare în profilele electroforetice obținute în urma migrării constituie o informație importantă pentru evaluarea diversității genetice. Polimorfismele care apar indică gradul de rudenie dintre speciile, subspeciile sau cultivarele analizate, constituind o amprentă genetică distinctă. În funcție de lungimea primerilor utilizați, există trei variante ale tehnicii: RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) – Polimorfisme de ADN amplificate aleator (Williams și colab., 1990; Parent și Page, 1992; Graham și Mcnicol, 1994); DAF (DNA Amplification Fingerprinting) – Amprenta obținută prin amplificarea ADN-ului; și AP-PCR (Arbitrary Primers PCR) – Reacția de Polimerizare în Lanț ce utilizează primeri arbitrari.

Relațiile la nivel molecular sunt esențiale pentru determinarea funcțiilor fundamentale ale eredității, variabilității și expresiei caracterelor, având un rol crucial în menținerea existenței, diversității și continuității materiei vii într-un mediu în continuă schimbare. Comportamentul caracterelor fenotipice reflectă direct modul de acțiune al genelor asociate, permițând astfel studierea indirectă a proprietăților genetice prin analiza fenotipurilor, care devin markeri moleculari. În acest context, selecția asistată de markeri (MAS) poate sprijini eficient selecția fenotipică (Sestraș și colab., 2009).

Îmbunătățirile genetice ale laricelui s-au bazat în principal pe înființarea de arborete semincere, ameliorare genetică și propagare prin butași (Larionova și colab., 2004; Oreshkova și colab., 2006). Diferite studii analizează diversitatea genetică, cartografierea legăturilor genetice, analiza paternității și fluxul genetic folosind markeri moleculari care au devenit populari, cum ar fi ADN-ul polimorfic amplificat aleatoriu (RAPD) și secvențele simple repetate intercalate (ISSR) (Bucci și colab., 1997; Goto și colab., 1998; Shahraji și colab., 2009) sau polimorfismul lungimii fragmentelor amplificate (AFLP) (Arcade și colab., 2000) și polimorfismele lungimii fragmentelor de restricție (RFLP) ale ADN-ului mitocondrial (mtDNA) (San Jose-Maldia și colab., 2009).

Pentru a preveni reducerea dramatică a suprafețelor forestiere cauzată de exploatarea intensă de lemn și de dăunători, este necesară dezvoltarea unor măsuri orientate spre conservarea fondului genetic și a diversității speciilor. Conservarea laricelui necesită o înțelegere mai profundă a structurilor genetice și a variației populațiilor și speciilor.

Studiul a utilizat eșantioane mari și individuale pentru a reflecta în mod precis și obiectiv resursele genetice, având ca scop studierea variabilității genetice pentru aplicarea unei selecții eficiente a celor mai valoroși arbori din arboretele de larice. Un alt obiectiv al cercetării a fost analiza nivelului de polimorfism și a relațiilor genetice prin tehnica moleculară RAPD, folosind atât eșantioane grupate, cât și eșantioane individuale, contribuind astfel cu mai multe date despre variația genetică a laricelui.

1.2.1.2 Material și metode de cercetare

Materialul biologic a fost reprezentat de clone de larice obținute prin altoire și de arboretele din care au fost obținute aceste clone. Clonele au fost obținute printr-un program de ameliorare, prin selecție din diferite zone geografice ale României, populații naturale sau artificiale (Figura 1.5): Gura Humorului (258 arbori), Valea Cetății (180 arbori), Săcele (72 arbori), Valea Popii (125 arbori), Sinaia (112 arbori) (situate în nordul României), Anina (109 arbori) și Latorița (109 arbori) (situate în sudul României). Arborii plus, din care au fost recoltate ramurile altoi, au fost identificați în aceste populații de origine (proveniențe).

Butașii vegetativi au fost altoiți pe portaltoii de larice obținut din semințe, realizându-se clonele care reprezintă materialul biologic utilizat în acest studiu, plantate în arboretul semincier Baciul în 1975. Plantația (arboretul Baciul) este situată la 46°8' N și 23°52' E, la o altitudine medie de 357 m. Condițiile climatice generale înregistrate în timpul studiului au fost: temperaturi cuprinse între -2,1 și 20,5 °C, umiditate relativă a aerului între 46,8% și 96,1% și cea mai lungă durată a soarelui în luna iulie.

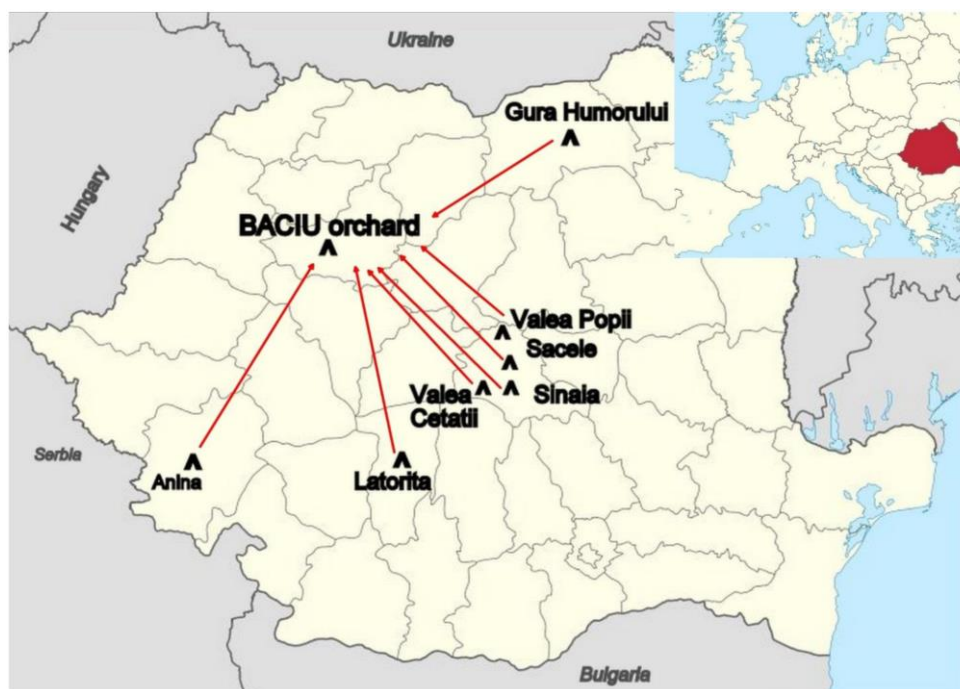


Figura 1.5 Poziția clonelor de larice și arealele de origine

Variația fenotipică

Pentru evaluarea fenotipică au fost luați în studiu câte 50 de arbori din fiecare proveniență, atât din plantajul Baciul, cât și din arboretele din țară. Măsurătorile și determinările pentru cele șapte clone vegetative din Baciul s-au concentrat pe mai multe caracteristici, în special pe productivitatea lemnului. Pentru studierea variabilității, au fost considerate relevante următoarele caractere: înălțimea arborelui (m), diametrul la 1,30 m (în cm), unghiul de inserție al ramurilor (grade), grosimea ramurilor (cm) și volumul arborelui (m³) (McComb, 1955; Carter și colab., 1990; Kang, 1991; Li și colab., 1992; Shearer, 2008). În arboretele de origine, din cauza vârstei arborilor, măsurătorile pentru unele caractere studiate în arboretul Baciul nu au fost posibile. Caracterele măsurate în arboretele de origine au fost înălțimea arborelui (m) și diametrul la 1,30 m (în cm), (Figura 1.5 și Tabelul 5).

Variația genetică a probelor analizate

Metoda a presupus selectarea formelor extreme, în acest caz a arborilor elită, atât din arboretele din țară, cât și din plantajul Baci. ADN-ul de la 10 arbori din fiecare zonă (7 zone în total) a fost extras, mixat și amplificat. Eșantioanele mixte au fost realizate pe baza unor studii (Schlötterer și colab., 2014; Kraft și Säll, 1999; Yu și Pauls, 1993; Sweeney și Danneberger, 1994 și Kongkiatngam și colab., 1996). În plus, ADN-ul fiecărei clone din plantajul Baci a fost extras și amplificat. Extracția ADN-ului s-a realizat pentru fiecare eșantion individual, utilizând un protocol elaborat de Lodhi și colab., 1994. Cantități egale de ADN individual au fost amestecate pentru a obține un eșantion mixt de ADN (Schlötterer și colab., 2014).

Tabelul 5

Coordonatele geografice ale proveniențelor analizate

Plantajul Baci	Suprafața (ha)	Coordonate geografice			Vârsta arborilor (ani)
		Altitudine (m)	Lat. N	Long. E	
Baci	8.5	357	46°80'	23°52'	34
Arealele de origine					
Gura Humorului	9.6	520–570	47°33'	25°53'	125
Valea Cetatii	4.8	800	45°21'	25°36'	100
Sacele	5.0	870–940	45°37'	25°42'	85
Valea Popii	6.4	670–700	45°30'	25°30'	100
Sinaia	3.0	750	45°10'	25°40'	90
Anina	1.8	680–710	45°50'	21°51'	120
Latorita	7.8	1000–1200	45°12'	23°55'	100

Amplificarea fragmentelor RAPD din ADN-ul genomic a fost realizată într-un volum total de reacție de 25 μ L, conținând 2 μ L ADN genomic, 5 μ L tampon, 3 μ L $MgCl_2$, 0,5 μ L dNTP, 1,6 μ L primer decamer și 0,2 μ L Taq ADN polimerază. Reacțiile au fost acoperite cu apă sterilă. Amplificările au fost efectuate într-un termociclator programat pentru 49 de cicluri: 40 sec la 90 °C (denaturare), 70 sec la 48 °C (fixare), 120 sec la 72 °C (elongare) și 4 °C pentru conservare pe termen lung. Pentru electroforeza pe gel de agaroză a ADN-ului, produsele de amplificare au fost separate pe geluri TAE de agaroză 1,5%, la 60 V/cm timp de 2 ore. Gelurile au fost colorate cu bromură de etidiu (0,5 μ g/ μ L) și fotografiate sub lumină UV, iar tehnica RAPD a fost efectuată pentru toate eșantioanele utilizând 15 primeri decameri.

Datele au fost procesate sub formă de valori medii, calculând variabilitatea caracterelor analizate. În acest fel, a fost realizată o analiză statistică a variației (ANOVA), utilizând testul t, considerând media experienței ca martor. Variabilitatea caracteristicilor analizate în cadrul experimentului a fost evaluată pe baza coeficienților de variabilitate. Mai mult, pe baza acestor coeficienți ($CV < 10\%$: variabilitate redusă; $10\% < CV < 20\%$: variabilitate medie; $CV > 20\%$:

variabilitate ridicată), a fost evaluată uniformitatea trăsăturilor luate în studiu pentru toate proveniențele. Numărul total de date binare RAPD a fost marcat pe baza prezenței/absenței benzilor (Abdulla și Gamal, 2010). Programul FreeTree (Hapl și colab., 2001) a fost utilizat pentru construirea arborelui filogenetic și pentru analiza bootstrap (distanțe Jaccard; metoda de grupare UPGMA). Pentru a analiza corelația dintre distanțele geografice și distanțele genetice, a fost aplicat testul Mantel, 1967.

1.2.1.3 Rezultate

Rezultate privind variația fenotipică a laricelui

Înălțimea arborilor a prezentat valori diferite la clonele de larice analizate, amplitudine de variație a fost cuprinsă între 9,4 m și 14,4 m (Tabelul 6). Clonele din Gura Humorului și Anina au prezentat valori mai mari comparativ cu media experimentului, considerată variantă martor (Tabelul 6). Diametrul la 1,30 m, o caracteristică importantă la arbori, a prezentat o amplitudine cuprinsă între 21,3 cm (Sinaia, cu o vigoare redusă de creștere) și 27,2 cm (Gura Humorului, cu o vigoare mare de creștere). Cele mai groase ramuri au fost observate la clonele din Gura Humorului și Anina.

Tabelul 6

Principalele particularități fenotipice la clonele și populațiile de larice

Origine (proveniență)	Clonele de larice										Populațiile de larice			
	Înălțimea arborilor (m)		Diametrul arborilor (cm)		Unghiul de insertie(degrees)		Grosimea ramurilor(cm)		Volumul arborilor(m ³)		Înălțimea arborilor (m)		Diametrul arborilor (cm)	
	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	CV%	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	CV%	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	CV%	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	CV%	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	CV%	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	CV%	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	CV%
Gura Humorului	14.3 ± 0.5**	24.4	27.2 ± 0.6**	27.5	85.3 ± 0.8	5.3	5.6 ± 0.2***	15.1	14.2 ± 0.3**	14.4	31.2 ± 0.4	7.1	53.5 ± 0.7**	13.7
Valea Cetatii	13.1 ± 0.6	27.6	25.6 ± 0.7	33.7	84.7 ± 0.9	6.0	4.1 ± 0.2 ^{ooo}	28.9	13.4 ± 0.4	17.7	31.6 ± 0.4	7.9	46.1 ± 1.0 ^{oo}	18.1
Sacele	11.0 ± 0.6	25.3	23.2 ± 0.8	35.1	87.3 ± 0.6	3.6	4.8 ± 0.2	24.4	12.2 ± 0.4	18.4	30.3 ± 0.3 ^o	6.1	46.5 ± 1.1 ^{oo}	19.6
Valea Popii	10.3 ± 0.4 ^o	16.0	22.0 ± 0.5 ^o	21.5	86.7 ± 0.6	4.1	4.5 ± 0.2	19.7	11.5 ± 0.2 ^o	11.3	33.5 ± 0.4**	7.1	53.0 ± 0.7*	12.5
Sinaia	11.6 ± 0.5	21.4	21.3 ± 0.6 ^{oo}	27.6	86.3 ± 0.8	5.0	5.1 ± 0.2*	16.8	11.2 ± 0.3 ^{oo}	14.5	30.7 ± 0.4	7.1	51.1 ± 0.6	11.0
Anina	14.4 ± 0.6**	26.9	25.4 ± 0.7	29.6	86.0 ± 0.6	3.9	5.6 ± 0.2***	17.2	13.3 ± 0.3	15.5	33.1 ± 0.4**	6.5	53.7 ± 0.5**	9.2
Latorita	9.4 ± 0.3 ^{ooo}	14.5	23.5 ± 0.8	35.9	86.7 ± 0.6	4.1	3.8 ± 0.2 ^{ooo}	24.8	12.3 ± 0.4	18.8	30.1 ± 0.4 ^o	6.7	50.2 ± 0.6	10.8
Media exp. (control)	12.0 ± 0.5	22.3	24.0 ± 0.7	30.1	86.1 ± 0.7	4.6	4.8 ± 0.2	21.0	12.6 ± 0.3	15.8	31.5 ± 0.4	6.9	50.6 ± 0.8	13.5

$\bar{x}$ = media caracteristicilor studiate < $S\bar{x}$ = abaterea standard raportată la media observată; CV% = coeficientul de variabilitate; *, **, *** pozitiv; o, oo, ooo negativ)

În cadrul proveniențelor de larice din țară, au fost înregistrate diferențe statistice semnificative (Tabelul 6). Cele mai bune performanțe în ceea ce privește înălțimea arborilor au fost obținute la arborii din Valea Popii (33,5 m) și Anina (33,1 m). Cele mai mari creșteri în

diametru au fost înregistrate la arborii care au înregistrat și cele mai mari creșteri în înălțime. Datele obținute arată că arborii cu cea mai mare vigoare în diametru și înălțime sunt cei din Anina, Valea Popii și Gura Humor, atât la clonele din Baci, cât și la arborii din arealele de origine.

Rezultate privind variația moleculară

Dintre cei 15 primeri decamerici utilizați pentru amplificare, doar cinci au generat benzi polimorfice: OPAL-20, OPC-15, OPA-03, OPAB-11 și OPA-18 (Tabelul 7). De asemenea, Scheepers și colab. (1999) au utilizat patru primeri pentru a identifica diferite specii de larice (*Larix decidua* și *Larix kaempferi*) și hibridul lor interspecific (*Larix×eurolepis*), demonstrând că primerii RAPD sunt un instrument fiabil, rapid și ieftin pentru identificarea speciilor de zădă. Primerii OPA-01 (CAGGCCCTTC), OPB-10 (CTGCTGGGAC), OPB-4 (GGACTGGAGT), OPB-7 (GGTGACGCAG), OPC-10 (TGTCTGGGTG), OPC-20 (ACTTCGCCAC), OPC-8 (TGGACCGGTG), OPH-20 (GGGAGACATC), OPAB-18 (CTGGCGTGTC) și OPH-10 (CCTACGTCAG) nu au produs loci polimorfici. Din cele 401 loci analizați, 40 au fost polimorfici și 361 monomorfici, rezultând un indice de polimorfism de 9,9% (Tabelul 7).

Tabelul 7

Primerii utilizați prin tehnica RAPD și rezultatele amplificării

Nr. crt.	Praimer	Secvență nucleotidică	Numărul total de benzi amplificate	Numărul de benzi amplificate polimorfice
1.	OPAL-20	AGG AGT CGG A	69	7
2.	OPC-15	GAC GGA TCA G	95	9
3.	OPA-03	AGT CAG CCA C	97	11
4.	OPAB-11	GTG CGC AAT G	71	7
5.	OPA-18	AGG TGA CCG T	69	6
Total			401	40

Primerul OPAL-20 (Figura 1.6) a generat un maxim de șapte loci. În toate probele, patru loci principali au fost observați la același nivel, atât în probele combinate, cât și în cele din zonele de origine (notate cu „a”), precum și în plantajul Baci (marcate cu „b”). Primerul OPC-15 a relevat nouă benzi/probă, polimorfismul fiind mai evident decât cel generat de primerul OPAL-20. Cel mai mare număr de loci a fost înregistrat în proba din Sinaia. Primerul OPA-03 a generat un maxim de 11 loci/probă; polimorfismul generat de acest primer este destul de relevant.

Relațiile genetice între clonele de larice și arealele de origine

Dendrograma (Figura 1.7), calculată pe baza datelor RAPD, oferă o reprezentare precisă a relațiilor dintre populațiile de larice studiate din arealele de origine și clonele de larice din plantajul Baci. Probele separate prin cele mai mici distanțe genetice pe dendrogramă sunt clasificate ca fiind strâns înrudite, în timp ce probele separate prin distanțe genetice mai mari sunt considerate a fi mai puțin înrudite.

Dendrograma indică o diversitate uniformă împărțită între arealele de origine și clonele de larice din Baci, desemnate prin literele „a” – populații din arealele de origine și „b” – clone din plantajul Baci. Se remarcă faptul că majoritatea arealelor de origine sunt grupate pe aceeași ramură cu proveniența Baci, cu excepția a două cazuri, Valea Cetății și Săcele, care sunt poziționate pe ramuri diferite, dar rămân strâns înrudite. Conform ecuației de regresie (Figura 1.8) și coeficientului de determinare ($R = 0,035$), nu există o corelație pozitivă între proveniențe influențate de distanțele geografice.

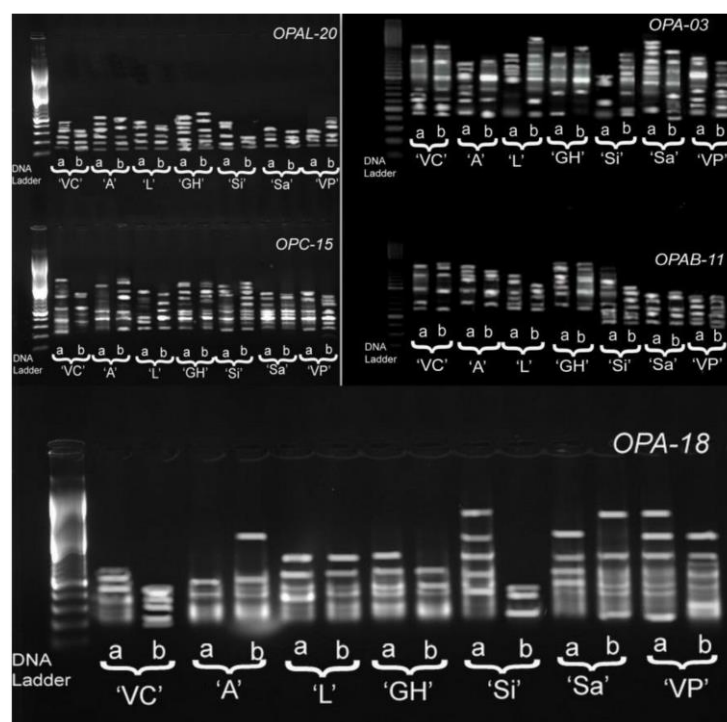


Figura 1.6 Rezultatele amplificării ADN-ului (RAPD) la probele de larice utilizând primerii OPAL-20, OPC-15, OPA-03, OPAB-11 și OPA-18

Notă: „VC” - Valea Cetății, „A” - Anina, „L” - Latorița, „GH” - Gura Humorului, „Si” - Sinaia, „Sa” - Săcele, „VP” - Valea Popii, a - probe combinate din standurile arealelor de origine (zonele de origine); b - clone din plantajul Baci

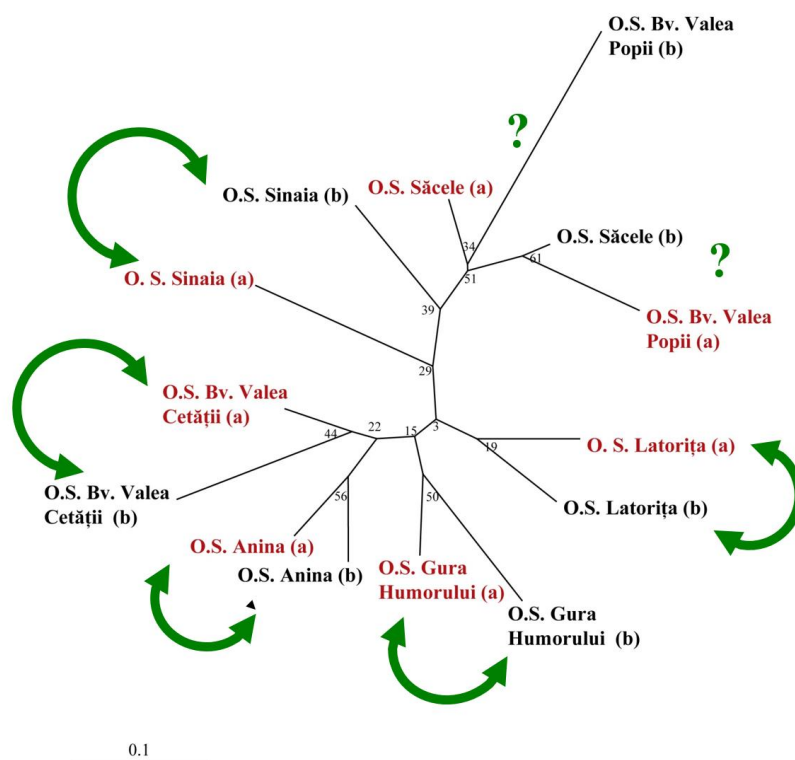


Figura 1.7 Dendrograma speciei *Larix decidua* pe baza markerilor RAPD, utilizând gruparea UPGMA și similaritățile genetice conform lui Jaccard

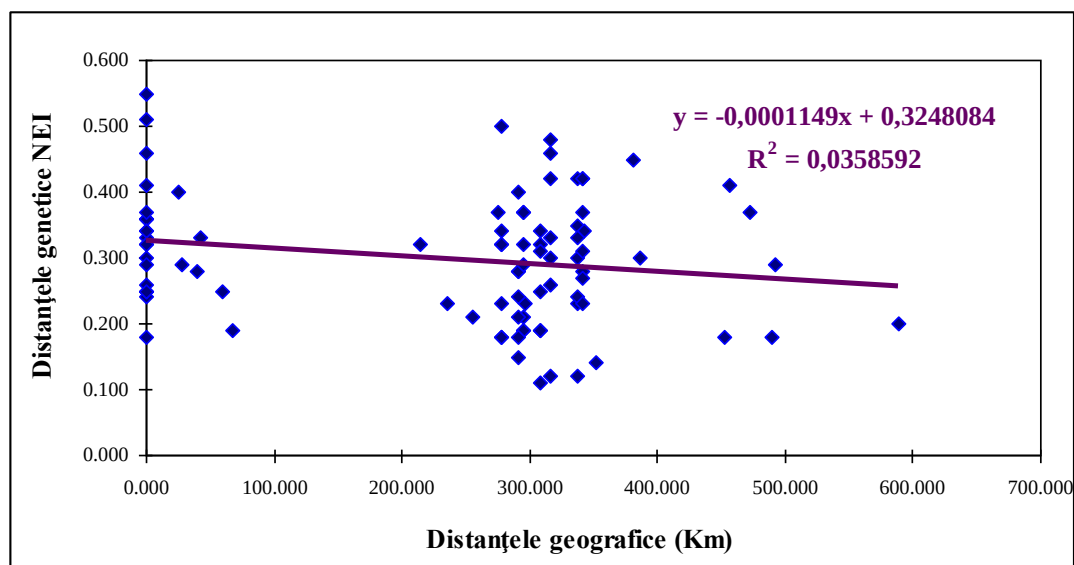


Figura 1.8 Ecuația de regresie între distanțele genetice și distanțele geografice dintre proveniențele analizate (testul Mantel)

1.2.1.4 Discuții

Proveniențele de larice Gura Humorului și Anina au prezentat o relație remarcabilă între înălțime și diametru. Cele mai mari creșteri în diametru au fost observate la arborii care au înregistrat și cele mai mari creșteri în înălțime. Relația între înălțime și diametru permite evaluarea eficientă a arboretelor și reprezintă o măsură a productivității (Vanclay, 1992).

Proveniențele de larice Gura Humorului și Anina au înregistrat valori remarcabile pentru toate caracteristicile de productivitate studiate. Aceste proveniențe pot fi recomandate cu succes pentru programele de ameliorare cu scopul obținerii unei productivități ridicate și pot fi considerate resurse genetice valoroase.

Schimbările climatice actuale impun realizarea unui inventar detaliat al resurselor naturale geografice (Chuine și colab., 2001; Cleland și colab., 2007). De exemplu, cele mai mari daune din pădurile carpatice s-au constatat la conifere. Pădurile carpatice au fost afectate timp de câteva decenii de poluanți atmosferici transportați de vânturi vestice din centrele urban-industriale din Austria, Germania, Republica Cehă, Polonia, Slovacia și Ungaria (Bruchwald și Zasada, 2010). Prin urmare, clonele de larice precum Anina și Gura Humorului pot fi recomandate pentru diverse programe de reîmpădurire în Munții Carpați. În plus, aceste proveniențe prezintă o variabilitate medie spre mare pentru aproape toate caracteristicile măsurate (cu excepția unghiului de inserție al ramurilor). O variabilitate mare înseamnă selecție eficientă și câștiguri genetice promițătoare (Paques și colab., 2010). Variabilitatea genetică largă pentru o gamă diversă de caracteristici, inclusiv forma, creșterea și proprietățile lemnului, oferă oportunități de îmbunătățire genetică a speciilor și hibrizilor de larice (Li și Wyckoff, 1994). De asemenea, Arcade și colab. (1996) au raportat valori semnificative pentru caracteristicile de creștere într-un design factorial de încrucișare folosind larice european (*L. decidua*) și larice japonez (*L. kaempferi*) ca părinți. Pazdrowski (2007) a identificat o corelație distinctă între înălțimea arborilor și volumul, respectiv proporția de alburn și duramen în tulpinile arborilor.

Populațiile de larice din care au fost recoltați altoii au prezentat o variabilitate medie spre mare a caracteristicilor evaluate. În acest sens, proveniențele Gura Humorului și Anina au coeficienții de variație de 13,7%, respectiv 9,2%, pentru diametrul arborilor, o caracteristică de o importanță deosebită. Deng și colab. (2010) au arătat o corelație distinctă între diametrul arborilor, volumul și densitatea lemnului la hibrizi de larice în vârstă de 17 ani. Din perspectiva ameliorării arborilor, rezultatele sunt încurajatoare, deoarece selecția surselor de semințe poate fi bazată pe caracteristici de creștere cu control genetic ridicat, iar transferul materialului reproductiv forestier se poate face fără riscuri (Mihai și Teodosiu, 2009; Vilcan și colab., 2013).

Eficiența markerilor moleculari în analiza diversității plantelor este bine cunoscută, iar acest lucru a stat la baza verificării relațiilor filogenetice ale genotipurilor de larice reprezentate de arealele de origine din țară și clonele din plantajul Baci. Numărul de loci polimorfici/primer (8 benzi) obținut este destul de mic, comparativ cu alte studii. Levina și colab. (2008) au obținut un total de 36 de benzi/primer folosind 12 primeri aleatori în diferite populații de larice. Pe de altă parte, numărul de loci RAPD obținuți este satisfăcător (401), comparativ cu Kozyrenko și colab. (2004), care au obținut 457 loci RAPD folosind 17 primeri aleatori în șase populații de

larice. Analiza RAPD a ilustrat diferențele genetice dintre proveniențele de larice. Se poate afirma că unele proveniențe reprezintă entități genetice distincte, identificabile la nivel molecular. Utilizarea markerilor RAPD cu probe combinate poate fi adecvată pentru identificarea genotipurilor în anumite cazuri, însă poate să nu reflecte cu acuratețe variația dintre sau între genotipuri (Sweeney și Danneberger, 1994). Variația genetică dintre populații este mică, iar diversitatea genetică în cadrul populațiilor este mai mare; totuși, sunt necesare studii suplimentare utilizând alte metode de marcarea pentru a obține informații privind variabilitatea ADN-ului. Așa cum era de așteptat, rezultatele clusterului genetic au arătat o diversitate uniformă între arealele de origine și clonele din plantajul Baci. Probele separate prin cele mai mici distanțe genetice în cluster sunt clasificate ca fiind strâns înrudite, în timp ce probele separate prin distanțe genetice mai mari sunt clasificate ca fiind mai puțin înrudite. Clusterul a fost împărțit în 7 grupuri majore, corespunzător materialului studiat, iar cele mai multe dintre populațiile de larice din arealele de origine au fost grupate pe aceeași ramură cu clonele de larice, cu excepția a două cazuri, Valea Cetății și Săcele, care s-au situat pe ramuri diferite, dar strâns înrudite. Această excepție poate fi explicată printr-o reprezentare diferită a indivizilor în proba combinată (erori de pipetare sau cuantificare a ADN-ului). Pentru a evita astfel de situații, ar trebui utilizate dimensiuni mari ale eșantioanelor (Schlötterer și colab., 2014). O altă explicație ar putea fi că semințele din Valea Cetății și Săcele au avut o origine comună, probabil austriacă. Clonele de larice sunt grupate în principal cu populațiile din care provin, deoarece speciile studiate au fost propagate vegetativ. Rezultatele amplificării unui singur individ (clonele din plantajul Baci) dintr-o populație omogenă sunt așteptate să fie identice cu cele ale unei probe combinate (populația de larice din arealele de origine) compusă din indivizi identici.

În ceea ce privește ecuația de regresie și coeficientul de determinare ($R = 0,035$), s-a constatat o lipsă de corelație între distanța genetică și distanța geografică a tuturor proveniențelor analizate. Mai mult, se poate observa o ușoară scădere a distanței genetice pe măsură ce crește distanța geografică între proveniențe. În contradicție cu acest rezultat, Zhang și colab. (2013) au înregistrat o corelație între distanța genetică și distanța geografică utilizând analize RAPD și ISSR pe 15 probe individuale de *Larix gmelinii*. De asemenea, Oreshkova și colab. (2013) au găsit o corelație semnificativă între distanțele genetice și cele geografice între populațiile de larice siberian, larice gmelin pe baza datelor markerilor SSR. Pe de altă parte, studiile privind laricele europene (*L. decidua*) bazate pe niveluri și modele de variație a enzimelor au demonstrat că nu există o relație semnificativă din punct de vedere statistic între distanța genetică și cea geografică (Lewandowski și Mejnartowicz, 1991). Prin urmare, sunt necesare studii suplimentare folosind mai multe metode de marcarea pentru a obține informații despre variabilitatea ADN-ului.

În concluzie, studiul de față subliniază faptul că arborii de larice din Gura Humorului și Anina au prezentat cea mai mare vigoare, atât în plantajul Baciului, cât și în arealele de origine din țară. În plus, există o variabilitate mare care permite o selecție eficientă pentru identificarea arborilor superiori, favorizând obținerea unor câștiguri importante în ameliorare. Diversitatea fenotipică semnificativă identificată în acest studiu a fost susținută de un polimorfism molecular ridicat, ceea ce indică faptul că populațiile studiate pot reprezenta o sursă valoroasă de material genetic pentru genofond.

1.3.1 Genotiparea SSR în diferite populații de larice

1.3.1.1 Introducere

Cunoașterea diversității genetice și a structurii populațiilor de larice din România este importantă pentru a elabora strategii de conservare și pentru a evalua potențialul lor de adaptare la schimbările climatice, precum și pentru selecție și ameliorare (Young, 2000; Mihai și Teodosiu, 2009; Marchal și colab., 2017; Vilcan și colab., 2017). Există puține informații despre structura genetică și diferențierea populațiilor de larice. În acest sens, Maier (1992) a găsit o diferențiere genetică scăzută între populațiile din Alpi, Polonia, Republica Cehă și Slovacia. Nardin și colab. (2015), folosind markeri de repetiție simplă a secvențelor (SSR) au identificat o diferențiere genetică scăzută între gradele altitudinale dintr-o populație naturală continuă de larice din Alpi. Există puține informații disponibile despre diversitatea genetică și structura populațiilor românești de larice. În acest sens, Mihai și Teodosiu (2009) au folosit izoenzyme pentru a caracteriza cinci populații din România de *L. decidua* și au găsit niveluri de diversitate similare celor raportate în alte studii din alte zone folosind metodologii similare (Lewandowski și colab., 2000). Mai recent, Vilcan și colab. (2017), folosind markeri de ADN polimorfism amplificat aleatoriu (RAPD), au găsit o diferențiere genetică redusă între populațiile românești de *L. decidua*, deși unele proveniențe au fost diferențiate la nivel molecular.

Caracterizarea genetică a populațiilor cu markerii moleculari ar putea oferi informații relevante despre diversitatea și structura lor genetică (Matras și colab., 2008). Markerii SSR prezintă mai multe avantaje față de alți markeri, deoarece sunt codominanți, abundenți, răspândiți în întregul genom, robuste, foarte polimorfici și pot fi multiplexați. SSR-urile sunt utilizate pe scară largă pentru evaluarea diversității genetice și a relațiilor între specii (González-Martínez și colab., 2006). Markerii SSR genomici au fost dezvoltati și testați pentru *L. decidua* (Isoda și Watanabe, 2006; Wagner și colab., 2012). Aceiași markeri au fost utilizați în alte studii de variație genetică a zădeli europene (Pluess, 2011; Nardin și colab., 2015), confirmând utilitatea lor.

În prezentul studiu, s-a utilizat markeri SSR genomici dezvoltați de Isoda și Watanabe (2006) și Wagner și colab. (2012) pentru a caracteriza indivizi de *L. decidua* din șapte populații românești din diferite zone. Informațiile despre diversitatea, structura și relațiile genetice ale acestor populații vor fi utile pentru a concepe măsuri pentru conservarea prezentă și viitoare a diversității genetice a speciei *L. decidua* din România, precum și pentru a dezvolta strategii de selecție și ameliorare a acestei specii.

1.3.1.2 Materialul și metodele de cercetare

Materialul vegetal a fost reprezentat de șapte populații de *Larix decidua* din diferite părți ale României (Tabelul 8; Figura 1.9). Cinci dintre populații se află în partea centrală a României (Latorița, Brașov Valea Cetății, Săcele, Brașov Valea Popii și Sinaia), una în partea vestică a României (Anina) și una în partea de nord a României (Gura Humorului). Populațiile aveau suprafețe ale fondului forestier între 1,8 ha (Anina) și 9,6 ha (Gura Humorului) și intervale de altitudine între 520–570 m (Gura Humorului) și 1000–1200 m (Latorița) (Tabelul 8). Au fost colectate ramuri laterale cu frunze tinere, de culoare verde deschis, pentru extracția ADN-ului de la trei arbori adulți (vârsta estimată între 80 și 125 de ani) situați în diferite părți ale fondului forestier din fiecare populație.

Extracția ADN-ului

ADN-ul genomic total a fost izolat din frunzele tinere, conform protocolului CTAB (Doyle și Doyle, 1987), cu mici modificări. ADN-ul extras a fost dizolvat în apă Milli-Q și concentrarea și calitatea acestuia (rapoartele 230/260 și 260/280 nm) au fost verificate inițial cu un spectrofotometru NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Pentru eșantioanele care nu aveau parametri de calitate ridicați, extracția a fost repetată. Calitatea acestora a fost confirmată în gel de agaroză la 0,8% și cu un fluorometru Qubit 2.0 (Thermo Fisher Scientific). ADN-ul a fost diluat cu apă Milli-Q la o concentrație de 30 ng/μL pentru amplificarea PCR a SSR-urilor.

Tabelul 8

Date geografice pentru populațiile de larice

Nr. crt.	Proveniența	Suprafața (ha)	Latitudine	Longitudine	Altitudine (m asl)
1.	Anina	1.8	45°05'N	21°51'E	680–710
2.	Latorita	7.8	45°23'N	23°50'E	1000–1200
3.	Gura Humorului	9.6	47°33'N	25°53'E	520–570
4.	Brasov Valea Cetatii	4.8	45°38'N	25°36'E	800
5.	Sacele	5.0	45°37'N	25°41'E	870–940
6.	Brasov Valea Popii	6.4	45°25'N	25°19'E	670–700
7.	Sinaia	3.0	45°19'N	25°33'E	750



Figura 1.9 Reprezentarea geografică a populațiilor de larice

Genotiparea SSR

Doisprezece markeri genomici SSR (Tabelul 9) dezvoltati de Isoda și Watanabe (2006) și Wagner (2012) au fost folosiți pentru a analiza indivizii de *L. decidua*. SSR-urile au fost organizate în două multiplexuri conform intervalului de mărime al alelelor așteptate (Wagner și colab., 2012) (Tabelul 9). Amplificarea SSR-urilor a fost realizată prin PCR într-un volum total de 12 μL , inclusiv 7,21 μL apă, 1,2 μL de tampon PCR 1X, 0,6 μL MgCl_2 (50 mM), 0,24 μL dNTP-uri (10 mM), 0,3 μL primer invers (10 μM), 0,06 μL primer înainte cu coadă M13 (10 μM), 0,24 μL fluorocrom (FAM, VIC, NED și PET; 10 μM), 0,15 μL Taq ADN polimerază (5 U/ μL) și 2 μL de șablon ADN (30 ng/ μL). Programul PCR folosit a fost următorul: 95 °C pentru 3 min pentru denaturare, 30 de cicluri de 30 s la 95 °C urmate de 30 s la 60 °C și 30 s la 72 °C, iar în final 72 °C pentru 5 min pentru ultimul pas de extensie. Produsele PCR au fost diluate și secvențiate prin electroforeză capilară folosind un secvențiator ABI PRISM 3100-Avant (Thermo Fisher Scientific) utilizând un standard de dimensiuni 600 LIZ GeneScan (Thermo

Fisher Scientific). Fragmentele PCR au fost analizate folosind software-ul GeneScan (Thermo Fisher Scientific) pentru a obține electrofotogramele. Polimorfismele au fost analizate cu software-ul Genotyper DNA Fragment Analysis (Thermo Fisher Scientific).

Prelucrarea datelor

Pentru analiza markerilor moleculare SSR, au fost folosite pachetele software PowerMarker (Liu și Muse, 2005) și GenAlEx 6.503 (Peakall și Smouse, 2012). Pentru fiecare locus SSR, au fost calculați următorii parametri folosind pachetul PowerMarker: numărul de alele (N_a), alela majoritară frecvența alelei (f), numărul de alele eficiente (N_e), numărul de genotipuri (N_g), conținutul informativ polimorfic (PIC) calculat astfel:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i^2 p_j^2$$

(unde n este numărul total de alele detectate, p_i este frecvența alelei i , iar p_j este frecvența alelei j) (Botstein și colab., 1980), heterozigozitatea observată (H_o) calculată ca numărul de alele heterozigote / numărul total de alele, heterozigozitatea așteptată (H_e) calculată astfel:

$$1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

(unde p_i este frecvența alelei i) (Nei, 1972), și indicele de fixare (F_{is}) calculat ca $F_{is} = 1 - (H_o / H_e)$ (Wright, 1965). Un arbore de consens a fost obținut în PowerMarker cu datele de similaritate genetică, folosind distanța genetică a lui Nei (Nei, 1972), pentru a evalua relațiile între populații prin metoda neighbor-joining (Saitou și Nei, 1987). Suportul ramurilor pe dendrogramă a fost testat prin analiza bootstrap cu 1000 de repetiții utilizând PowerMarker și vizualizat prin software-ul PHYLIP versiunea 3.67 (Felsenstein, 2007). Analiza varianței moleculare (AMOVA) a fost efectuată folosind software-ul GenAlEx 6.503 (Peakall și Smouse, 2012) utilizând datele celor 12 loci SSR.

Variabilitatea moleculară totală a fost împărțită în următoarele surse de variație: între populații, între indivizi și în cadrul indivizilor. Matricea de distanță genetică (Nei, 1972) între diferitele intervale a fost calculată cu pachetul software GenAlEx 6.5. Relația dintre distanțele genetice și distanțele geografice între indivizi a fost calculată utilizând analiza de regresie liniară. Structura populației a fost estimată folosind un model bazat pe analiza Bayesiană implementat în software-ul STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard, 2000). Au fost realizate 20 de rulări în STRUCTURE setând numărul de clustere (K) de la 1 la 7 (numărul locațiilor accesurilor eșantionate). Fiecare rulare a constat într-o perioadă de burn-in de 5000 de pași urmată de 50.000 de replicări (MCMC), presupunând un model de amestec și frecvențe de alele necorelate. Metoda ΔK (Evanno și colab., 2005) a fost utilizată pentru a identifica numărul de clustere (K) folosind software-ul STRUCTURE HARVESTER 0.6.94 (Earl, 2012). Analiza principalelor coordonate (PCoA) pentru a reprezenta grafic relațiile genetice dintre indivizi a fost efectuată folosind software-ul GenAlEx 6.5.

1.3.1.3 Rezultate

Rezultate privind caracterizarea și diversitatea SSR

Nu a fost detectată nici o suprapunere a intervalelor de dimensiuni ale markerilor în cadrul celor două multiplexuri pentru loci SSR marcați cu același colorant (Tabelul 9), prin urmare, cei 12 markeri SSR au putut fi evaluați fără ambiguitate. Pentru cei 12 markeri SSR, intervalele de dimensiune obținute se încadrează în intervalele de dimensiune descrise de Wagner și colab. (2012).

Tabelul 9

Markerii SSR utilizați, clasa în care au fost incluși, intervalul de dimensiuni și sursa markerilor SSR

Markeri SSR	Secvență repetitivă	Colorant	Intervalul de dimensiuni (bp)	Sursa
Multiplex 1				
bcLK189	(AG)17AT(AG)6	NED	150–172	Wagner și colab. (2012)
bcLK211	(CT)16	FAM	188–222	Wagner și colab. (2012)
bcLK228	(AG)18	VIC	177–215	Wagner și colab. (2012)
bcLK253	(AG)17	NED	195–227	Wagner și colab. (2012)
lardec001529 (Ld30)	(AC)18	VIC	114–132	Isoda and Watanabe (2006)
lardec022835 (Ld50)	(CA)18	PET	157–185	Isoda and Watanabe (2006)
Multiplex 2				
bcLK263	(TC)20	PET	195–227	Wagner și colab. (2012)
lardec023929 (Ld42)	(TG)14	VIC	179–185	Isoda and Watanabe (2006)
lardec024823 (Ld45)	(CA)13	FAM	202–212	Isoda and Watanabe (2006)
lardec023228 (Ld56)	(AC)16	NED	231–243	Isoda and Watanabe (2006)
lardec022359 (Ld58)	(AC)15	FAM	139–171	Isoda and Watanabe (2006)
lardec025807 (Ld101)	(AC)12	NED	189–197	Isoda and Watanabe (2006)

Acești 12 markeri SSR au fost amplificați în toți indivizii, cu excepția unui individ pentru fiecare dintre markerii bcLK26, Ld30, Ld50 și Ld101 și a două individe pentru Ld58, rezultând într-un procentaj de date lipsă de 2,38%. Astfel, doar șase din cei 21 de indivizi genotipați au avut un marker SSR lipsă, în timp ce 15 nu aveau date lipsă.

Toți loci SSR evaluați au fost polimorfici (Tabelul 10), iar toți indivizii genotipați aveau un profil genetic diferit. Numărul de alele SSR (N_a) detectate a variat între patru (pentru Ld42) și 11 (pentru bcLK253 și bcLK263). Frecvența alelei majore (f) a variat între 0,214 (bcLK228) și 0,750 (Ld101), în timp ce numărul de alele eficiente (N_e) a variat între 1,73 (Ld101) și 7,74 (bcLK253), iar numărul de genotipuri (N_g) a variat între șase (Ld101) și 14 (bcLK253) (Tabelul 10). PIC pentru loci SSR a variat între 0,397 (Ld101) și 0,858 (bcLK253), cu o valoare medie de 0,713, iar toți loci, cu excepția unuia (Ld101), au avut valori PIC peste 0,5. Heterozigozitatea observată și cea așteptată (H_o și H_e , respectiv) au avut valori medii de $H_o = 0,542$ și $H_e = 0,738$, rezultând într-un index de fixare mediu (F_{is}) de $F_{is} = 0,256$ (Tabelul 10).

Tabelul 10

Diversitatea genetică a markerilor SSR în populațiile de larice

SSR locus	N_a	f	N_e	N_g	PIC	H_o	H_e	F_{is}
bcLK189	9	0.333	4.79	7	0.764	0.429	0.791	0.458
bcLK211	10	0.500	3.42	10	0.685	0.714	0.707	-0.010
bcLK228	10	0.214	7.06	12	0.843	0.667	0.858	0.223
bcLK253	11	0.238	7.74	14	0.858	0.857	0.871	0.016
bcLK263	11	0.375	4.79	11	0.769	0.300	0.791	0.621
Ld30	8	0.325	5.19	10	0.784	0.550	0.808	0.319
Ld42	4	0.500	2.67	7	0.558	0.381	0.626	0.391
Ld45	5	0.333	4.26	10	0.727	0.571	0.765	0.253
Ld50	6	0.425	3.54	9	0.675	0.300	0.718	0.582
Ld56	6	0.500	3.11	8	0.684	0.810	0.678	-0.194
Ld58	9	0.289	5.78	12	0.806	0.526	0.827	0.363
Ld101	6	0.750	1.73	6	0.397	0.400	0.421	0.050
Mean $\pm$ SE	7.92 $\pm$ 0.70	0.399 $\pm$ 0.043	4.51 $\pm$ 0.51	9.67 $\pm$ 0.68	0.713 $\pm$ 0.037	0.542 $\pm$ 0.055	0.738 $\pm$ 0.036	0.256 $\pm$ 0.072

Notă: (N_a) numărul de alele, (f) frecvența alelei majore, (N_e) numărul de alele efective, (N_g) numărul de genotipuri, (PIC) conținutul informațional polimorf, (H_o) heterozigoția observată, (H_e) heterozigoția așteptată și (F_{is}) indicele de fixare

Deși au fost găsite intervale largi de variație între loci SSR pentru H_o (0,300 la 0,857) și H_e (0,421 la 0,871), corelația dintre acești parametri a fost redusă ($r = 0,327$) și nesemnificativă ($P = 0,2989$). Aceasta a dus la o variație largă între loci SSR pentru F_{is} , cu valori de la -0,194 (Ld56) la 0,621 (bcLK263) (Tabelul 10).

Rezultate privind analiza clusterului multivariat al populațiilor

Analiza multivariată a clusterului neighbor-joining a celor șapte populații studiate arată că populația 3 (Gura Humorului) din nordul României și de la cea mai joasă altitudine (520–570 m) este diferită față de celelalte populații din centrul României (Figura 1.10). Dintre acestea, două clusteruri sunt clar diferențiate, cu o valoare de bootstrap de 100%, unul conținând populația 6 (Brașov Valea Popii), care se află pe locul al doilea la o gamă de altitudine joasă (670–700 m), și celălalt alcătuit din populațiile rămase. Dintre acestea, valorile de bootstrap de peste 50% sunt detectate doar pentru nodul care separă populația 7 (Sinaia) de populațiile 1 (Anina) și 4 (Brașov Valea Cetății), care, la rândul lor, sunt de asemenea diferențiate printr-o valoare de bootstrap de 96% (Figura 1.10). Aceste trei populații ulterioare sunt de la altitudini de 800 m sau mai mici, în timp ce celelalte două populații, adică populațiile 2 (Latorita) și 5 (Săcele), sunt de la altitudini de peste 850 m. Interesant este că, cu excepția populației 3, nu se observă o distribuție geografică clară în distribuirea populațiilor (Figura 1.11).

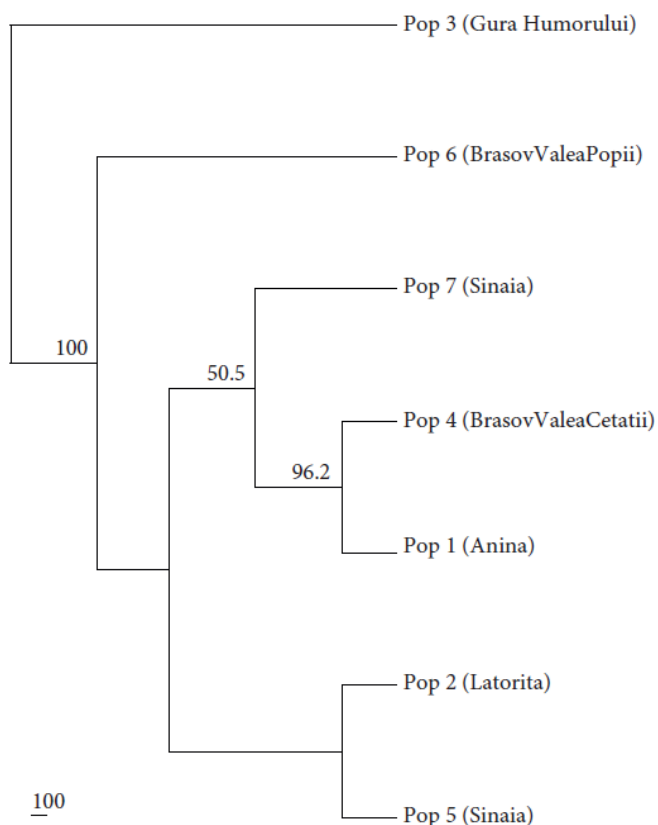


Figura 1.10 Dendrograma Neighbor-Joining bazată pe distanțele genetice ale lui Nei pentru cele șapte populații de larice

Structura genetică a populațiilor

AMOVA (Tabelul 11) a relevat că o parte din variabilitatea genetică observată este cauzată de diferențele dintre populații, în timp ce o altă parte este datorată diferențelor genetice între indivizi. Două treimi din variabilitatea genetică observată este datorată variabilității genetice la nivelul indivizilor, din cauza heterozigozității (Tabelul 11). Lipsa structurii populaționale este confirmată când se studiază relația dintre distanțele genetice și cele geografice (Figura 1.11). În acest sens, nu există o corelație semnificativă între aceste distanțe ($r = -0,017$; $P = 0,7984$).

Statistica ΔK a avut un maxim la $K = 4$, indicând prezența a patru clustere genetice în arborii celor șapte populații de *L. decidua* examinate (Figura 1.12). Cu excepția indivizilor din populațiile 2 (Latorita) și 4 (Brașov Valea Cetății), în care toți indivizii din aceste populații au aparținut clar aceluiași cluster genetic, indivizii fiecărei populații au fost asigurați mai multor clustere genetice (Figura 1.13).

Tabelul 11

Analiza moleculară a varianței (AMOVA) între populații, între indivizii din cadrul populațiilor și în interiorul indivizilor (datorită heterozigoției) pentru cele șapte populații de larice, conform celor 12 markeri SSR

Sursa de variație	d.f.	S.S.	M.S.	Componentele varianței	Procentajul variației
Total		41		188.83	
Între populații	6	56.33	9.389	0.785	16.63
Între indivizi	14	65.50	4.679	0.744	15.77
În interiorul indivizilor	21	67.00	3.190	3.190	67.60

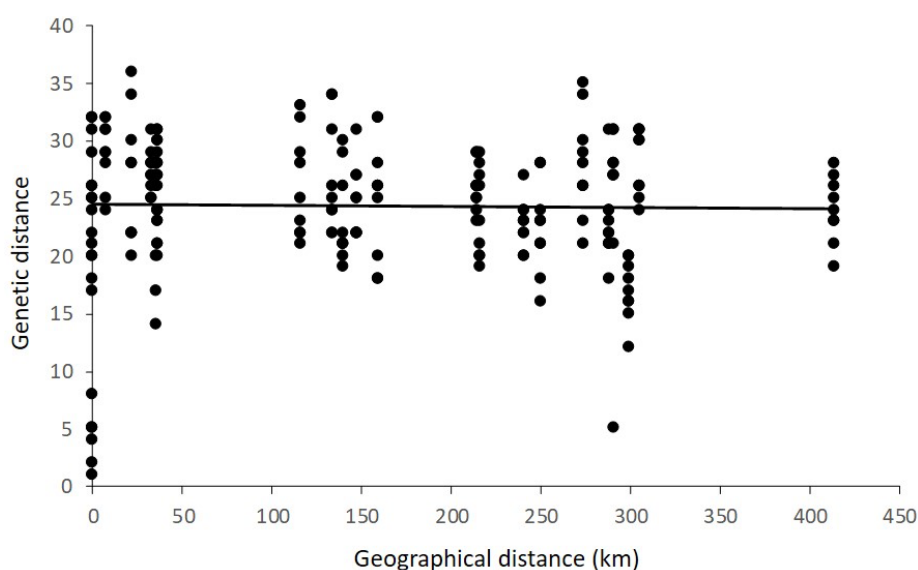


Figura 1.11 Relațiile dintre distanța geografică și distanțele genetice ale lui Nei (1972), bazate pe 12 markeri SSR

În trei probe individuale, aparținând de la doi indivizi din populația 3 (Gura Humorului) și unul din populația 6 (Brașov Valea Popii), nu s-a putut face o atribuire clară la vreunul dintre clusterelor genetice și au fost considerate admixte între două sau trei cluster genetice (Figura 1.14). Primul cluster genetic (I) este compus dintr-un individ din populația 1, trei indivizi din populația 4 și unul din populația 7; al doilea cluster (II) este cel mai mare și este format din doi indivizi din populația 1, trei indivizi din populația 2, unul din populația 5 și doi din populația 6; al treilea cluster genetic (III) este format din doar doi indivizi din populația 5; iar al patrulea cluster genetic (IV) din doi indivizi din populația 7 (Figura 1.14). Doi indivizi din populația 3 corespund unui amestec între clusterelor II, III și IV, în timp ce un individ din populația 6 este un amestec între clusterelor genetice II și IV (Figura 1.14).

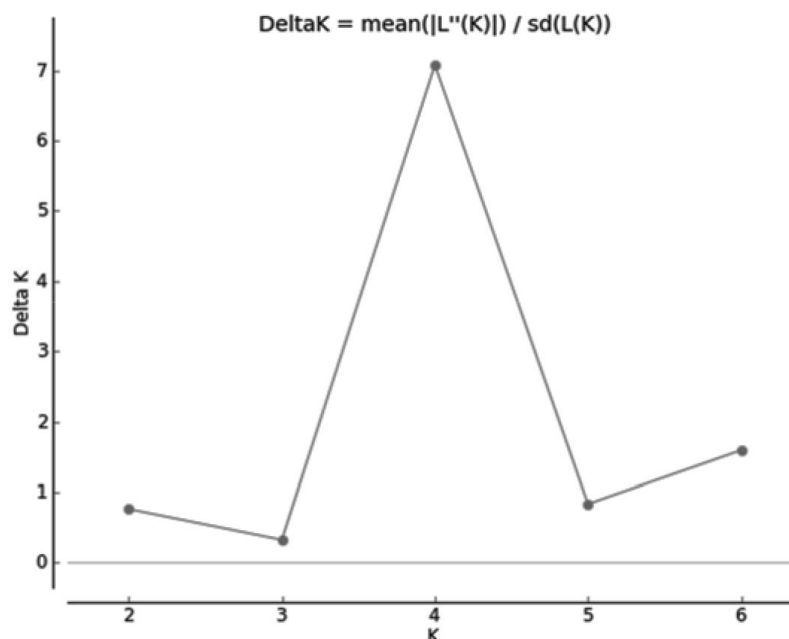


Figura 1.12 Valorile Delta K pentru două până la șase clustere genetice pentru 21 de indivizi de larice colectați din șapte populații, Delta K a fost calculat conform metodei lui Evanno și colab. (2005)

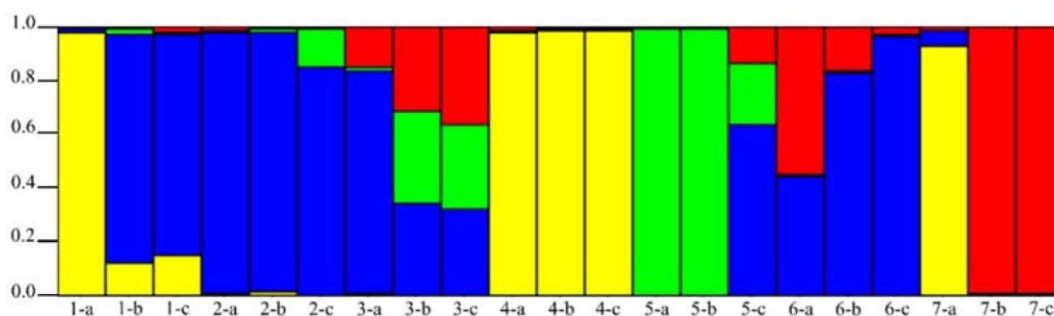


Figura 1.13 Structura estimată a populației pentru 21 de indivizi din șapte populații de larice, pe baza unui număr de clustere (K) K = 4. Fiecare plantă individuală este reprezentată printr-o bară verticală, împărțită în segmente colorate care oferă o estimare a proporției de apartenență la fiecare dintre cele patru clustere genetice. Fiecare bară este marcată cu numărul populației (1–7) și individul corespunzător (a–c)

Analiza multivariată PCoA a indivizilor

Cele patru clustere genetice sunt confirmate în analiza multivariată PCoA (Figura 1.14). Prima coordonată separă în esență clusterul genetic I, cu valori pozitive; clusterul genetic II, care se află în partea de mijloc a graficului; și clusterurile genetice III și IV, care au valori negative pentru această primă coordonată (Figura 1.14). Aceste două clustere sunt separate pe componenta a treia, clusterul III având valori pozitive și clusterul IV valori negative pentru a doua componentă principală. Indivizii admiși sunt localizați intermediar între clusterurile din care fac parte (Figura 1.14).

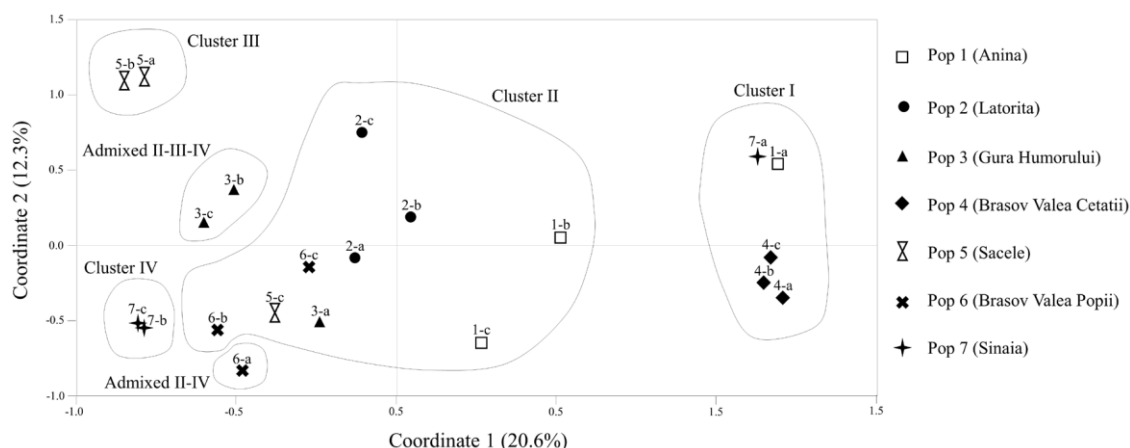


Figura 1.14 Analiza coordonatelor principale (PCoA) a similarităților bazată pe markerii SSR polimorfici, pentru indivizii de larice din cele șapte populații, utilizând primele două coordonate principale (PCo1 și PCo2)

Notă: PCo1 și PCo2 contribuie cu 20,6% din variația totală, iar PCo3 contribuie cu 12,3%. Fiecare punct este marcat cu numărul populației (1–7) și individul (a–c). Sunt indicate cele patru clustere genetice (I–IV) identificate prin analiza structurii populației, precum și indivizii cu amestec genetic.

1.3.1.4 Discuții

Strategia dezvoltată de Wagner și colab. (2012) s-a dovedit eficientă în genotiparea populațiilor românești de *L. decidua*. Astfel, la fel ca în alte lucrări care au utilizat aceiași markeri pentru *L. decidua* (Pluess, 2011; Nardin și colab., 2015), nu s-a observat nicio suprapunere în intervalele de dimensiuni ale markerilor SSR marcați cu același colorant. Intervalele de dimensiune obținute pentru fiecare SSR au fost corelate cu cele obținute de Wagner și colab. (2012), deși intervalul de variație a fost mai restrâns în cazul nostru, probabil datorită faptului că acești autori au examinat o zonă geografică mai largă (mai multe țări) a populațiilor de *L. decidua*. Interpretarea datelor SSR este deosebit de sensibilă la datele lipsă (Reeves și colab., 2016); totuși, în cazul nostru, rata de date lipsă pentru markerii SSR individuali a fost zero sau foarte scăzută și, prin urmare, nu a justificat eliminarea vreunui marker SSR din analize (Nardin și colab., 2015; Reeves și colab., 2016).

Statisticile de diversitate obținute pentru markerii SSR genomici arată că există o mare variație genetică în materialele analizate. Numărul de alele (N_a) pe marker este oarecum mai mic decât cel obținut de Wagner și colab. (2012) și Nardin și colab. (2015), deși aceștia au analizat un număr mai mare de indivizi. Totuși, numărul de alele eficiente (N_e) nu diferă semnificativ de valorile obținute de Nardin și colab. (2015). Faptul că numărul de genotipuri (N_g) este în general diferit și mai mare decât numărul de alele (N_a) este un indiciu al prezenței locilor heterozigote (Guo și Thompson, 1982). Valorile PIC de peste 0,5 sunt considerate ridicate (Pandey și colab., 2012), iar în cazul nostru toți locii SSR, cu excepția unuia, au avut valori peste acest prag, ceea ce indică faptul că un număr redus de loci SSR genomici informați, ca cei utilizați de noi, oferă informații relevante pentru evaluarea fiabilă a diversității și structurii genetice la *L. decidua*.

(Pluess, 2011; Wagner și colab., 2012; Nardin și colab., 2015). În acest sens, valorile PIC obținute de noi sunt mai mari decât cele obținute pentru SSR-uri la *L. kaempferi* (Chen și colab., 2015) și similare cu cele ale markerilor SSR informativi din alte specii de conifere, cum ar fi cele din genul *Picea* (A'Hara și Cottrell, 2009; Shi și colab., 2014).

Valorile mari pentru heterozigozitatea observată (H_o) erau așteptate, având în vedere reproducerea alogamă a *L. decidua* (Lewandowski și Burczyk, 2000) și dimensiunile mari ale populațiilor. Valorile heterozigozității așteptate (H_e) au fost, de asemenea, mari, cu o valoare medie peste 0,7, și similare cu valorile observate pentru această specie (Pluess, 2011) și pentru *L. kaempferi* (Isoda și Watanabe, 2006), oferind dovezi suplimentare ale importanței SSR-urilor utilizate. După cum s-a observat la *L. decidua* (Pluess, 2011; Wagner și colab., 2012; Nardin și colab., 2015) și la alte specii de conifere (Mosca și colab., 2012; Leonarduzzi și colab., 2016), valorile H_o și H_e au fost destul de similare, ceea ce relevă un grad înalt de alogamie și o izolare genetică scăzută în materialele evaluate, așa cum s-a observat cu markerii RAPD în aceleași populații (Vilcan și colab., 2017). Ca urmare, valorile indexului de fixare (F_{is}) pentru markerii SSR au fost scăzute și, după cum s-au observat în alte studii efectuate la larice (Nardin și colab., 2015; Vilcan și colab., 2017) și la alte conifere (Leonarduzzi și colab., 2016), în unele cazuri acestea au fost negative, indicând un exces de heterozigoți față de cei prevăzuți de echilibrul Hardy-Weinberg pentru acești markeri (Wright, 1965). În ansamblu, datorită naturii lor codominante, gradului înalt de amplificare, multiplexării eficiente, ratei reduse de date lipsă, polimorfismului ridicat și informativității mari, markerii utilizați, care au fost dezvoltati de Isoda și Watanabe (2006) și Wagner și colab. (2012), sunt de mare utilitate pentru evaluarea diversității și structurii genetice ale populațiilor de larice.

Analiza clusterului celor șapte populații le-a grupat în principal în funcție de intervalele altitudinale, mai degrabă decât de distanța geografică. Într-un studiu al diferențierii genetice la *L. decidua* pe patru intervale altitudinale diferite din Alpii Francezi, Nardin și colab. (2015) au găsit o diferențiere genetică scăzută, dar semnificativă, între ele. Un rezultat similar, cu două intervale altitudinale, a fost obținut la *L. decidua* din Alpii Elvețieni (Zhao și colab., 2000) și la *L. kaempferi* de pe Muntele Fuji din Japonia (Nishimura și Setoguchi, 2011).

Rezultatele AMOVA dezvăluie un nivel scăzut de structură genetică între cele șapte populații, chiar dacă acestea sunt situate la distanțe de până la 358 km. De fapt, variația genetică între indivizii din cadrul unei populații a fost similară cu diferențele între populații. Aceste rezultate sunt în concordanță cu cele obținute pentru populațiile de *L. decidua* din Alpi, Polonia, Cehia și Slovacia (Maier, 1992) și cu un nivel scăzut de diferențiere genetică între parcele și între indivizii din aceleași parcele într-o populație de larice european din Alpi (Nardin și colab., 2015). Majoritatea variației genetice a corespuns variației la nivel de individ, care se datorează

prezenței diferitelor alele la loci individuali (adică heterozigozitate). Această situație este frecvent întâlnită la arborii forestieri, unde niveluri mari de heterozigozitate sunt întâlnite frecvent (González-Martínez și colab., 2006; Carabeo și colab., 2016; Tóth și colab., 2017). În cazul nostru, nivelurile scăzute de structură genetică au implicații importante pentru scopuri de selecție și ameliorare, indicând faptul că o diversitate genetică largă poate fi găsită în urma unui singur individ, ceea ce ar rezulta din nivelul înalt de heterozigozitate combinat cu natura alogamă a speciei *L. decidua* (Lewandowski și Burczyk, 2000). Scăderea structurării genetice este confirmată de lipsa corelației între distanțele genetice și cele geografice, ceea ce a fost observat și cu markerii RAPD în aceleași populații (Vilcan și colab., 2017). Acest lucru sugerează că, în ciuda habitatelor fragmentate, așa cum se întâmplă și la alți arbori forestieri (Kremer și colab., 2012), are loc un flux genetic pe distanțe mari la specia *L. decidua*.

Numărul de clustere genetice este mai mic decât cel al populațiilor și, cu excepția a două populații, indivizii din aceeași populație aparțin unor clustere genetice diferite. Acest lucru sprijină din nou ideea unui flux genetic și migrație extinsă la *L. decidua* (Lewandowski și Burczyk, 2000; González-Martínez și colab., 2006). Un cluster genetic major este distribuit în cinci din cele șapte populații, sugerând că acest fundal genetic poate conferi o adaptare largă. Pe de altă parte, faptul că două clustere genetice mici (III și IV) cuprind indivizi dintr-o singură populație, poate fi consecința unui avantaj adaptativ la condiții de mediu specifice (Hamrick, 2004). Aceasta ar permite menținerea acestor clustere genetice, în ciuda fluxului genetic extins, migrației și hibridizării.

În concluzie, în ciuda dimensiunii limitate a eșantionului dintr-o populație, markerii SSR genomici foarte informativi (Isoda și Watanabe, 2006; Wagner și colab., 2012) s-au dovedit a fi utili pentru evaluarea diversității și evaluarea structurii genetice a populațiilor de *L. decidua* din România. Rezultatele arată că există o mare diversitate genetică a indivizilor heterozigoți în populațiile de larice din România și că, în ciuda distanțelor geografice semnificative și a intervalelor altitudinale ale eșantioanelor populației, există o diferențiere genetică limitată. Acest lucru are implicații importante pentru conservarea diversității genetice a laricelui european într-un scenariu de schimbare climatică, precum și pentru selecția și ameliorarea acestei specii importante (Matras și Pâques, 2008; Marchal și colab., 2017; Vilcan și colab., 2017). Diversitatea genetică ridicată poate, de asemenea, să faciliteze adaptarea, prin selecție, a laricelui european la schimbările climatice.

Capitolul 2

ANALIZA UNOR PROVENIENȚE DE BRAD CA SURSE DE SEMINȚE, ÎN FUNCȚIE DE CARACTERISTICILE SEMINȚELOR ȘI CAPACITATEA LOR DE GERMINARE

2.1 Introducere

Schimbările climatice reprezintă o provocare actuală și care vor continua să conducă la modificări globale semnificative (Alotaibi, 2023). Predicțiile actuale despre schimbările climatice viitoare sunt însoțite de un grad ridicat de incertitudine, iar efectele lor asupra pădurilor generează o îngrijorare tot mai mare. Schimbările climatice afectează direct sau indirect creșterea arborilor și productivitatea pădurilor (Marsz și colab., 2022; Keenan, 2015). Modificările temperaturii și precipitațiilor, precum și creșterea nivelurilor de dioxid de carbon, au efecte asupra stării vegetative a arborilor și asupra proceselor biologice, influențând chiar și cele mai complexe ecosisteme forestiere în diferite moduri. În plus, pierderea biodiversității constituie una dintre principalele probleme recente cauzate de schimbările climatice (Marsz și colab., 2022; Koulelis și colab., 2023). Astfel, datorită modificării așteptate a mediului înconjurător, zonele naturale de creștere ale celor mai multe specii vor fi afectate, iar arborii, la fel ca și alte plante, reacționează în moduri diferite la aceste schimbări (Mihai și colab., 2022). Unele specii forestiere pot prezenta o mare plasticitate fenotipică, iar populațiile existente pot tolera sau se pot adapta la schimbările de mediu (Chambel și colab., 2015; Ahirvar și colab., 2020). Având în vedere că se preconizează modificări ale temperaturilor și precipitațiilor, speciile forestiere, inclusiv coniferele, ar putea deveni tot mai amenințate (Todea și colab., 2020; Richter și colab., 2012). În consecință, se consideră necesar să se adopte măsuri adecvate în gestionarea pădurilor pentru a reduce daunele cauzate de schimbările climatice și ajustările posibile ale distribuției geografice a speciilor (Roshani și colab., 2022). Pentru a îmbunătăți situația actuală a pădurilor și a contracara riscurile care amenință fondul forestier în viitor, cercetarea trebuie să se concentreze pe o mai bună înțelegere a răspunsurilor plantelor la stresul abiotc, iar îmbunătățirea genetică a arborilor trebuie să fie completată cu tehnici corespunzătoare de reîmpădurire și gestionare a pădurilor (Guo și colab., 2018). În acest sens, resursele genetice forestiere sunt foarte importante și trebuie utilizate pragmatic și eficient în viitor, constituind o resursă de valoare și o piatră de temelie pentru managementul forestier durabil [Mihai și colab., 2021; Keeling și colab., 2018]. Schimbările climatice au efecte majore asupra ariei naturale de distribuție a speciilor, pădurile fiind supuse unei presiuni severe în acest sens din cauza factorilor biotici și abiotici (Mirzaei și colab., 2013). În funcție de prognozele furnizate în evoluția factorilor climatici și de capacitatea

speciilor de a se adapta la schimbările climatice, dezvoltarea resurselor forestiere și gestionarea lor sustenabilă devin politici naționale de mare importanță.

Abies alba Mill. este una dintre cele mai valoroase conifere din Europa, având funcții ecologice, economice și de protecție a solului importante, și o distribuție largă în zonele montane ale Europei, inclusiv în Carpați (Truța și colab., 2020). Interesul în creștere pentru această specie, alături de recunoașterea faptului că bradul a fost supus unor măsuri silvice necorespunzătoare, din cauza lipsei de înțelegere a ecologiei sale, a activat studii recente din diverse domenii, care au adus noi perspective asupra ecologiei, structurii și dinamicii populațiilor de brad (Pârnuță și colab., 2011). În plus, semănatul direct al bradului, ca metodă de regenerare artificială cu o tradiție îndelungată în gestionarea pădurilor, a fost recent reconsiderat în contextul conversiei pădurilor de molid din centrul Europei (Roman și colab., 2022). Totuși, regenerarea pădurilor depinde de o germinație bună a semințelor (un procent mare) și de calitatea răsadurilor, indiferent de metoda de reproducere utilizată pentru împădurire și reîmpădurire (Fetouh și colab., 2014). Chiar și în condiții favorabile de mediu, semințele mature și viabile nu germinează frecvent din cauza stării de repaus. Prezența unui tegument gros oprește pătrunderea apei și a oxigenului care ar activa sămânța sau împiedică expansiunea acesteia, în timp ce repausul embrionar este indus de starea seminței care oprește germinarea. Există diferențe semnificative între speciile de arbori în ceea ce privește cauzele repausului semințelor; totuși, un tratament simplu de stratificare poate reduce perioada de repaus a semințelor de brad. Stratificarea este procesul de înmuiere și răcire a semințelor înainte de semănat, care imită condițiile naturale în care semințele se găsesc iarna în solul umed și rece (Islam și colab., 2009). În semințele de brad, uleiurile eterice stocate în tegumentul seminței, induc repausul, care durează mai multe luni. Pentru ca semințele stocate să germineze, este necesar un tratament de stratificare umed-rece de șase săptămâni, iar semănatul de toamnă asigură o germinație eficientă. Procesul de germinație are o importanță semnificativă pentru ciclul de viață al plantei, fiind stadiul inițial pentru crearea unei noi generații. Având în vedere starea fragilă a puietului, germinația reprezintă un moment de vulnerabilitate ridicată (Fetouh și colab., 2014).

Este bine cunoscut faptul că majoritatea speciilor de arbori forestieri nu produc anual fructificații, acest lucru fiind influențat de diverși factori interni și externi, astfel că producția de semințe este abundentă doar în anumiți ani, la anumite intervale de timp. În consecință, îmbunătățirea metodelor de producție a semințelor este de mare interes în plantațiile de conifere (Chiapusio, și colab., 1997). Tegumentul semințelor de brad este bogat în uleiuri esențiale care au un efect inhibitor asupra germinației; astfel, bradul este considerat o specie cu o capacitate scăzută de germinație (25%–35%) (Hossain și colab., 2005). Din acest motiv, este necesar să se stimuleze capacitatea de germinație a semințelor prin diferite tehnici. În România, nu există o

metodă standard pentru brad, dar ghidurile tehnice oferă recomandări pentru producția, procesarea și condiționarea semințelor forestiere, respectiv pentru producția de material forestier reproductiv (FRM), inclusiv semănatul de toamnă, pentru a preveni scăderea procentului de germinație, care poate scădea chiar cu 50%, prin păstrarea semințelor până în primăvara următoare (Holonec și colab., 2021).

Pentru a înfrunța repausul seminței, diferite tehnici de stimulare fizice sau chimice acționează asupra semințelor, sau integritatea seminței trebuie deteriorată. În condiții naturale, această deteriorare se produce din cauza acțiunii unor factori, cum ar fi temperaturile scăzute (înghețurile) sau temperaturile ridicate (incendii) [45,46]. În prezent, sunt utilizate diferite metode pentru scarificarea semințelor, metoda de scarificare mecanică fiind una dintre cele mai utilizate (Rajora și colab., 2001). Biostimulatorii, cum ar fi Atonik și Cropmax, sunt utilizați pe scară largă pentru diferite specii, deoarece îmbunătățesc atât germinația semințelor, cât și înrădăcinarea puieților. Biostimulenții influențează pozitiv majoritatea proceselor vitale ale plantelor și chiar amplifică energia germinativă a semințelor, asigurând obținerea unor răsaduri care germinează mai repede și mai uniform (Aravanopoulos și colab, 2015). Ca și în cazul altor specii, metodele de stimulare a germinației trebuie corelate cu particularitățile ecologice și biologice ale speciei (Sestras și colab, 2018).

Pornind de la aceste premize, studiul actual a avut ca scop evaluarea mai multor proveniențe de *A. alba* din România pentru a identifica resurse genetice potențiale de interes silvic cu caracteristici adecvate și pentru a obține puieți care să fie utilizați în programele de împăduriri și reîmpădurire. Mai mult, au fost investigate influența a cinci tratamente de stimulare a capacității de germinație a semințelor de brad, cu intenția de a obține materiale reproductive de calitate. De asemenea, au fost luate în considerare interacțiunile dintre diferite origini geografice (adică variațiile genetice și ecologice) și tratamentele efectuate pentru stimularea germinației.

2.2 Materiale și metode de lucru

2.2.1. Locațiile geografice ale proveniențelor

Au fost recoltate conuri de brad din șapte zone geografice diferite din România, din păduri regenerate natural. Astfel, conurile și semințele utilizate ca material biologic aparțin celor șapte proveniențe. Cu excepția a două proveniențe, arboretele sunt înregistrate în Catalogul Național al Resurselor Genetice Forestiere. Proveniența, județul, codul, unitatea de producție (UP) și unitatea amenajistică (u.a.) ale fiecărei proveniențe sunt prezentate în Tabelul 2.1. Locațiile geografice pentru cele șapte proveniențe de *A. alba* studiate în România sunt reprezentate în Figura 2.1. Toate proveniențele provin din zonele Carpaților Românești, cinci dintre ele fiind situate în partea de nord-vest a țării, una în partea de nord și una în partea centrală.

Tabelul 2.1

Populațiile de *A. alba* din România care au generat materialul biologic pentru studiu, reprezentat de conuri și semințe

Nr.	Proveniența	Județul	Cod	Ocolul silvic
1	Valea Bistrei	Alba	BR-E320-3*	O.S.P. Abrud, UP III, u.a. 228B
2	Someșul Rece	Cluj	BR-E320-7*	O.S. Someșul Rece UP I u.a. 92A
3	Avrig	Sibiu	BR-C120-10*	O.S. Izvorul Florii UP III u.a. 75A
4	Budescu	Maramureș	BR-A120-22*	O.S. Poieni, UP IV, u.a. 96A
5	Sohodol	Alba	BR, MO-E320-2*	O.S.P. Abrud UP 18C
6	Valea Morii	Alba	**	O.S. Valea Arieșului UP V, u.a. 39
7	Gârda Seacă	Alba	**	O.S. Gârda UP VI, u.a. 20H

Notă: *Populațiile și codurile de descriere sunt detaliate conform Catalogului Național al Resurselor Genetice Forestiere, București 2011 [53];

** Proveniențe care nu sunt incluse în Catalogul Național al Resurselor Genetice Forestiere.

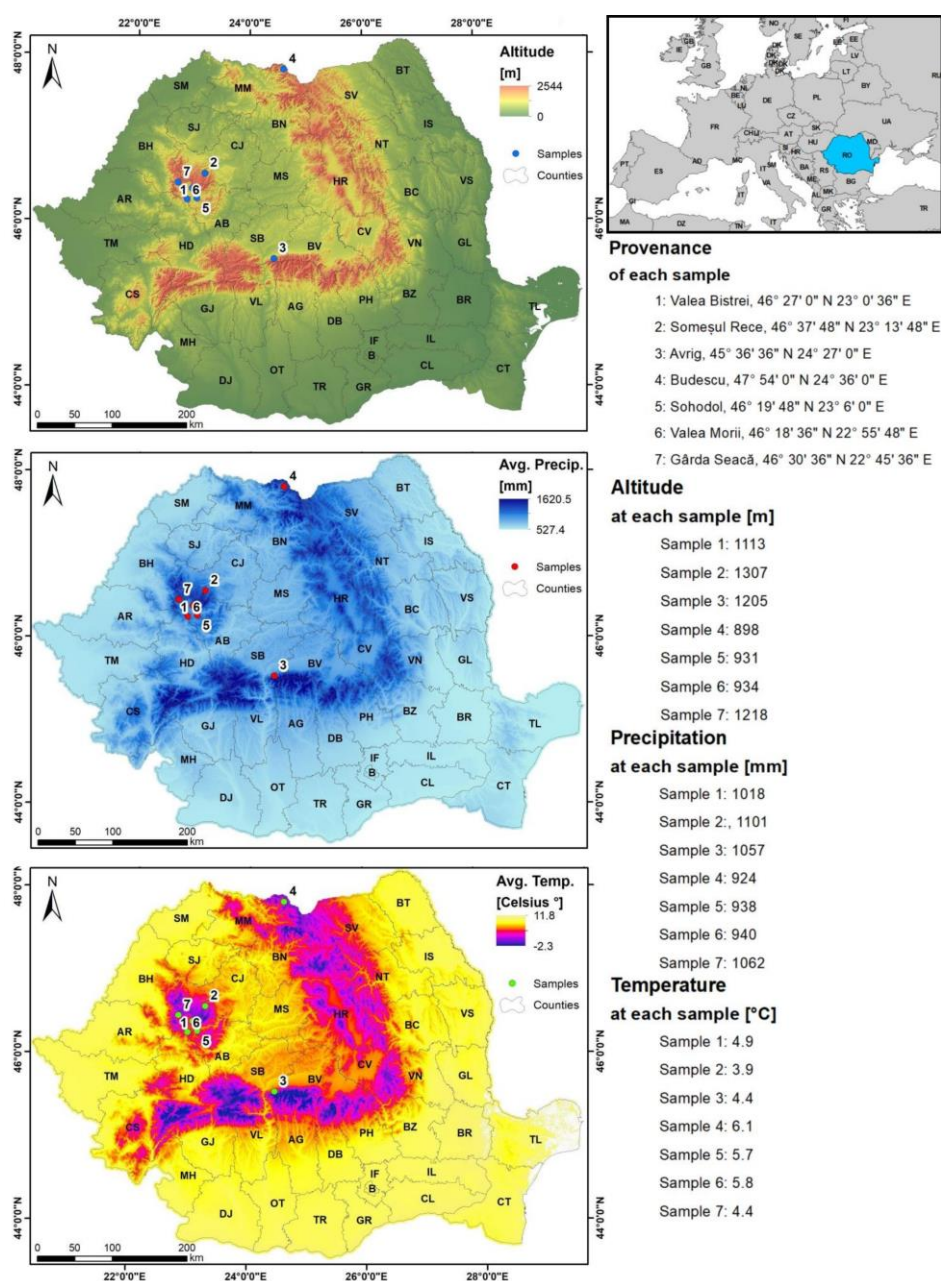


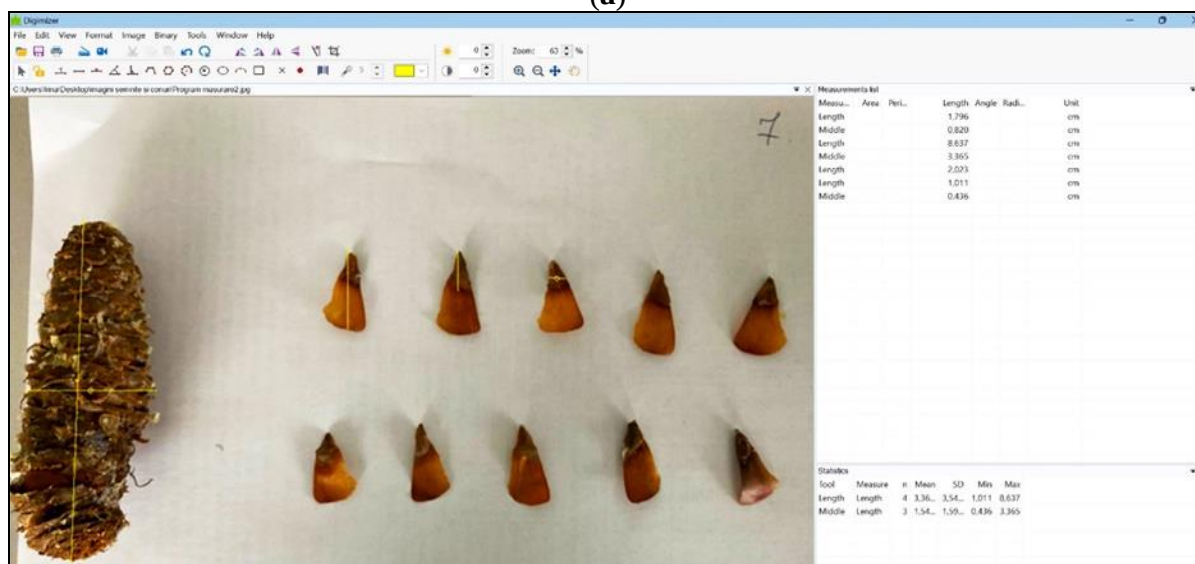
Figura 2.1 Locațiile geografice ale celor șapte proveniențe de brad din România și principalele particularități ale fiecărei zone

2.2.2. Caracterizarea conurilor și semințelor de *A. alba*

Conurile au fost recoltate de la cel puțin zece arbori adulți pentru fiecare proveniență, cu caracteristici favorabile de creștere și calitate superioară a lemnului. Ulterior, semințele au fost depozitate la o temperatură constantă de 20°C în laboratorul ICHAT, USAMV Cluj-Napoca. Următoarele caracteristici au fost determinate și analizate ca valori medii: lungimea conului (cm), diametrul conului (cm), masa conului (g), numărul de semințe pe con, lungimea semințelor, inclusiv aripioara (cm), lățimea semințelor (cm), și masa semințelor cu și fără aripioară (g) (Figura 2.2a). Pentru determinarea masei s-a folosit o balanță de precizie, iar pentru măsurarea lungimii a fost utilizat un software specializat (Digimizer Image Analysis Software versiunea 6.3.0, MedCalc, Ostend, Belgia) (Figura 2.2b).



(a)



(b)

Figura 2.2 Analize efectuate: (a) extragerea semințelor din conuri și analizele morfologice ale conurilor și semințelor; (b) măsurători ale conurilor și semințelor, utilizând software-ul Digimizer, versiunea 6.3.0.

2.2.3. Indicii de germinare analizați

Capacitatea de germinare a semințelor a fost analizată după ce semințele au fost sortate pentru viabilitatea lor, prin procesul flotației (Tabelul 2.2).

Tabelul 2.2

Tratamentele folosite pentru stimularea semințelor de brad

Nr.	Treatament	Observații
1.	Control	Fără tratament special, semințele de brad au fost înmuiate timp de 24 de ore în apă, la 18 °C
2.	Atonik	Semințele de brad au fost înmuiate într-o soluție de biostimulator timp de 2 ore înainte de a fi puse la germinat
3.	Metoda de scarificare mecanică	Semințele au fost scarificate cu hârtie abrazivă până când tegumentul a fost vizibil deteriorat
4.	Acetonă (80%)	Semințele au fost înmuiate într-o soluție de acetonă timp de 10 minute
5.	Soluție de acid sulfuric (H ₂ SO ₄ 70%)	Semințele au fost înmuiate într-o soluție de acid sulfuric timp de 10 minute

Atonikul este un biostimulator care amplifică capacitatea de germinare a semințelor și accelerează apariția plantelor și creșterea lor uniformă (Aravanopoulos și colab., 2015). Acesta conține 0,2% ortonitrofenolat de sodiu, 0,3% paranitrofenolat de sodiu și 0,1% 5-nitrogaicolat de sodiu.

Pentru a evalua germinarea, semințele au fost udate la fiecare două zile cu apă de la robinet și păstrate în condiții similare în laborator, la o temperatură de 20°C. Semințele au fost puse în vase Petri, iar ca și substrat s-a folosit hârtia de filtru. Au fost realizate patru repetiții, cu 50 de semințe pe repetiție, pentru fiecare combinație, având în vedere fiecare populație (proveniență) și fiecare tratament. Pentru a identifica viteza de germinare, au fost făcute observații la zilele 4, 7, 10, 14, 21 și 28, pentru toate proveniențele și tratamentele.

Pe baza literaturii de specialitate (Fetouh și Hassan, 2014;), principalii indici ai germinării semințelor au fost analizați astfel:

GP (Procentul de germinare, %):

$$GP = \text{Numărul de semințe germinate pe zi} / \text{Numărul total de semințe germinate} \times 100$$

GI (Indice de germinare):

$$GI = \text{Numărul de semințe germinate} / \text{Zile de la prima citire} + \dots + \text{Numărul de semințe germinate} / \text{Zile de la ultima citire}$$

SE (Viteza de germinare/Energia germinativă):

$$SE = \text{Numărul de semințe germinate în prima zi de germinare} / \text{Numărul de semințe germinate în ultima zi de germinare} \times 100$$

CRG (Coeficientul de viteză a germinării):

$$CRG = n_1 + n_2 + \dots + n_n / n_1 \times T_1 + n_2 \times T_2 + n_3 \times T_3 + \dots + n_n \times T_n \times 100$$

- n_1 = număr de semințe germinate în ziua 1 (T_1)
- n_2 = număr de semințe germinate în ziua 2 (T_2)
- n_n = număr de semințe germinate în ziua n (T_n)

SVI (Indicele de vigoare a plantulelor):

$$SVI = [\text{Lungimea plantulelor (mm)} \times \text{Procentul de germinare}] / 100.$$

2.2.4. Analiza datelor

După verificarea datelor, a fost efectuat testul ANOVA cu un singur factor pentru a determina dacă există diferențe reale între mediile obținute pentru caracteristicile conurilor și semințelor de brad în funcție de proveniență. ANOVA bifactorială s-a folosit pentru germinarea semințelor, în funcție de origine și tratamentele aplicate. În cazul unor diferențe semnificative din punct de vedere statistic între medii, s-a aplicat Testul Multiple Range Test, Duncan (Duncan MRT) ca test post hoc ($p < 0,05$) pentru a identifica diferențele dintre medii. În toate cazurile, rezultatele sunt prezentate ca valori medii ale caracteristicilor analizate + SEM (eroare standard a mediei). A fost realizată o analiză multivariată, respectiv analiza componentelor principale (PCA), pe datele obținute. Au fost analizate șapte proveniențe diferite de brad folosind graficul de analiză multivariată a componentelor principale din software-ul Past 4.09 [63]. Analiza a inclus principalele caracteristici ale conurilor și semințelor, precum și germinarea semințelor în funcție de cinci tratamente distincte pentru îmbunătățirea capacității de germinare. De asemenea, a fost realizată o dendrogramă, folosind distanțele dintre origini și attribute, determinate pe baza distanțelor Euclidiene.

2.3 Rezultate**2.3.1 Principalele caracteristici ale conurilor de brad în funcție de proveniențe**

Principalele caracteristici ale conurilor în funcție de proveniențele geografice ale speciei *A. alba* sunt prezentate în Figura 2.3, ca medii și erori standard ale acestora. Pentru lungimea conului (Figura 2.3.a), s-au înregistrat valori între 7,98 cm (Valea Bistrei) și 13,70 cm (Valea Morii). Proveniențele Someșul Rece, Budescu și Gârda Seacă nu au înregistrat diferențe semnificative între ele. Pentru diametrul conului, cele mai mici valori au fost înregistrate în proveniența Valea Morii (3,85 cm), în timp ce cea mai mare valoare a fost observată în proveniența Gârda Seacă (6,2 cm); în ciuda acestor valori medii, Gârda Seacă nu a înregistrat diferențe semnificative din punct de vedere statistic față de proveniențele Avrig și Budescu (Figura 2.3b).

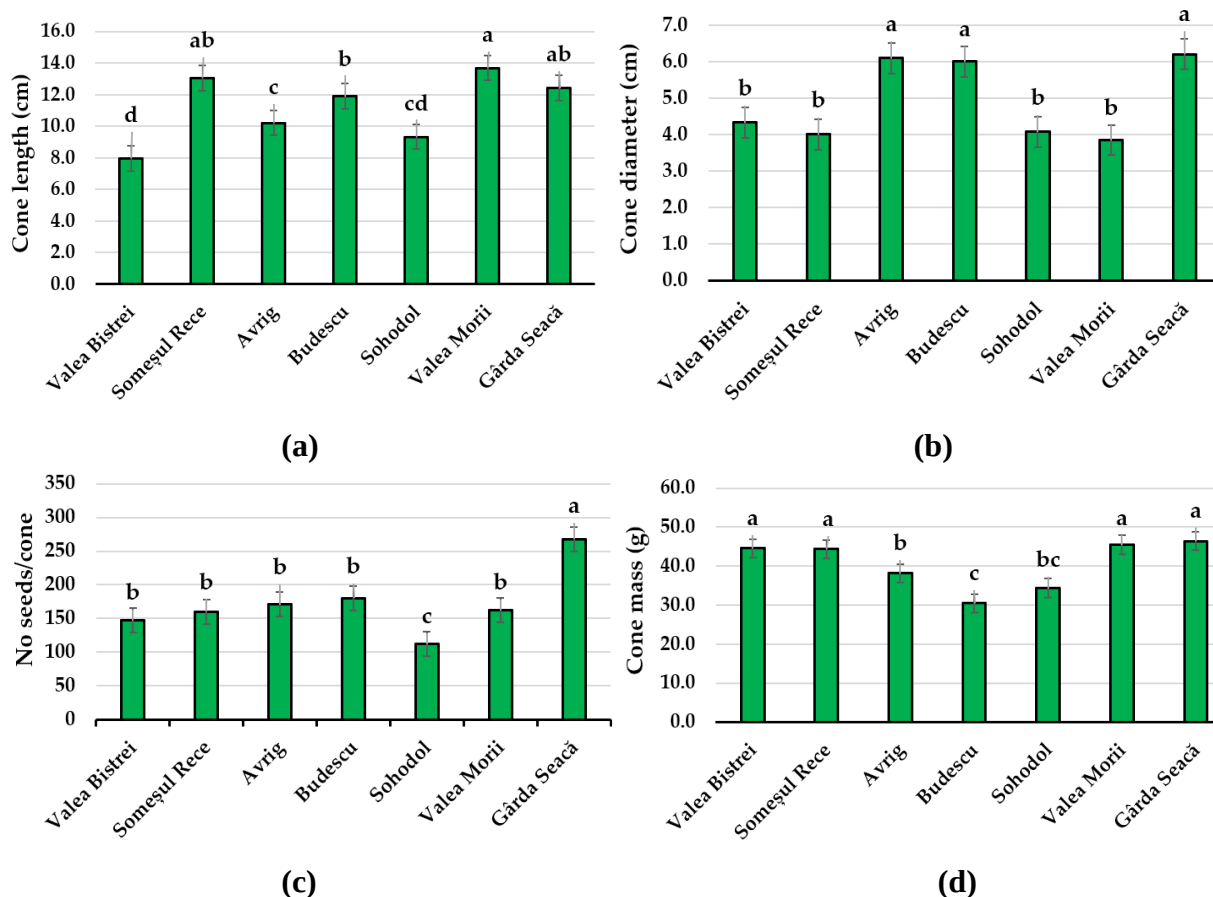


Figura 2.3 Principalele caracteristici ale conurilor de brad în funcție de proveniențele geografice

Note: (a) lungimea conului ($F = 25,9$, $p = 0,000$); (b) diametrul conului ($F = 3,1$, $p = 0,045$); (c) numărul de semințe per con ($F = 126,3$, $p = 0,000$); (d) masa conului ($F = 31,4$, $p = 0,000$). Literele diferite între medii indică diferențe semnificative din punct de vedere statistic pentru caracteristica respectivă, la un nivel de semnificație $p < 0,05$ (testul Duncan).

Cea mai mare valoare a numărului de semințe dintr-un con a fost înregistrată în proveniența Gârda Seacă, cu 268 semințe/con (Figura 2.3.c), iar pentru masa conului, aceeași proveniență a prezentat valori superioare cu diferențe semnificative față de celelalte proveniențe, înregistrând o medie de 46,43 g (Figura 2.3.d). Cele mai mici valori pentru aceste caracteristici, cu diferențe semnificative, au fost înregistrate în Sohodol cu un număr de semințe într-un con de 112 și în Budescu cu masa conului de 30,46 g.

2.3.2. Principalele caracteristici ale semințelor în funcție de proveniențe

La proveniențele de brad analizate, s-au înregistrat diferențe semnificative pentru principalele caracteristici ale semințelor (Figura 2.4). Pentru lungimea seminței, proveniența Valea Morii a prezentat valori superioare, cu o medie de 2,54 cm, înregistrând diferențe semnificative față de toate celelalte proveniențe de brad. Cea mai mare valoare a lățimii (grosimii) seminței a fost înregistrată pentru proveniența Valea Bistrei (0,87 cm), în timp ce proveniențele Budescu și Sohodol au înregistrat cele mai mici valori, ambele de 0,78 cm.

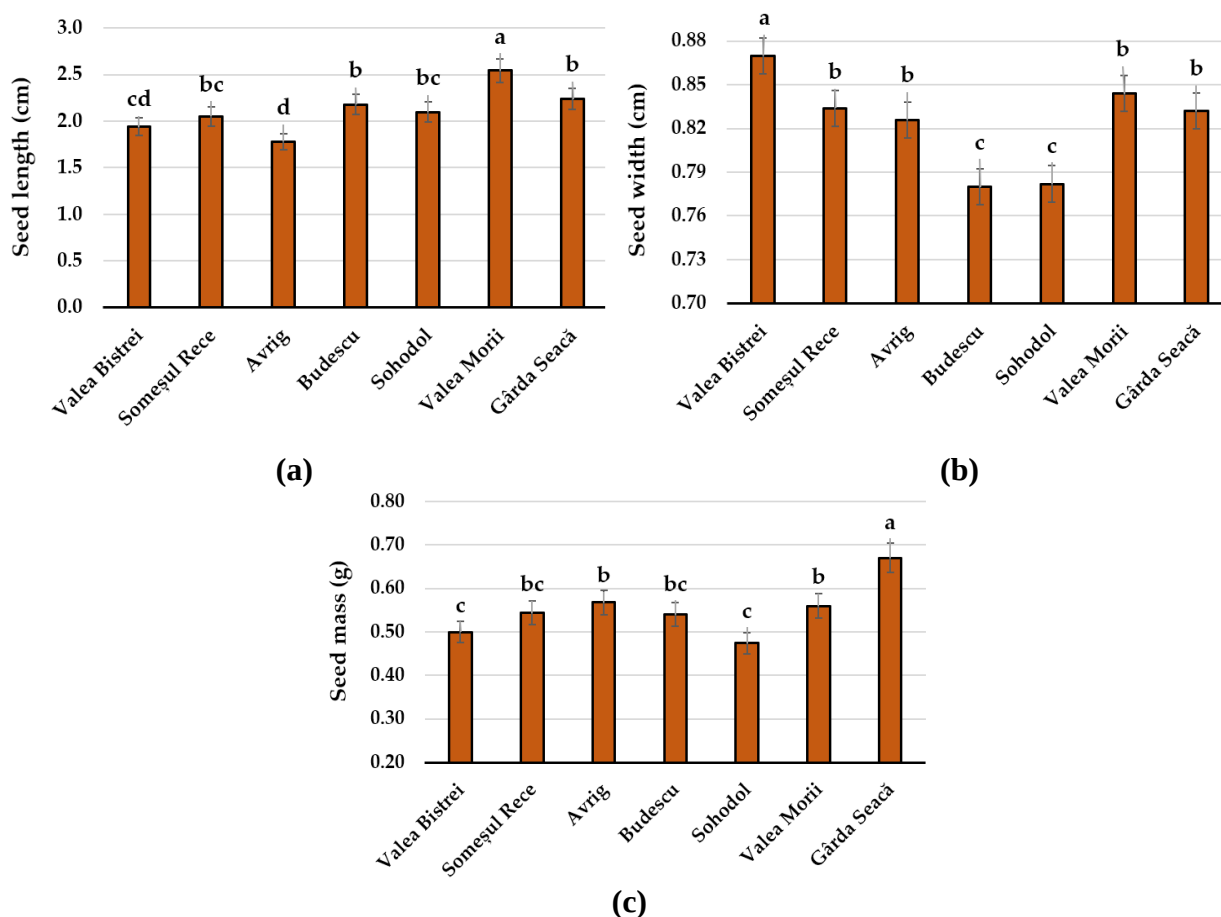


Figura 2.4 Principale caracteristici ale semințelor în funcție de proveniențele geografice, exprimate ca medii $\pm$ EPM (respectiv, valoarea F și valoarea p, test ANOVA)

Notă: (a) lungimea seminței ($F = 3.2$, $p = 0.041$); (b) lățimea seminței ($F = 3.2$, $p = 0.041$); (c) masa seminței ($F = 4.7$, $p = 0.010$). Literele diferite între medii indică diferențe semnificative din punct de vedere statistic pentru caracteristica respectivă, la un nivel de semnificație $p < 0.05$ (test Duncan).

Între celelalte proveniențe (Someșul Rece, Avrig, Valea Morii și Gârda Seacă) nu s-au înregistrat diferențe semnificative statistic. Semințele cu cea mai mare masă dintre toate zonele geografice s-au observat în proveniența Gârda Seacă (Figura 2.4).

2.3.3. Germinarea semințelor de brad

Germinarea semințelor (%) a prezentat diferențe semnificative în funcție de proveniența geografică și de tratamentul de stimulare (Figura 2.5). S-au înregistrat diferențe și între valorile medii ale germinării semințelor calculate pe baza interacțiunii dintre tratament și proveniență ($T \times P$), cu oscilații între 5% și 60% (Figura 2.5a). Limitele de variație ale germinării semințelor, în funcție de proveniența geografică, indiferent de tratament, au fost între 26% (Sohodol) și 48% (Gârda Seacă) (Figura 2.5b). În funcție de influența tratamentelor aplicate semințelor, indiferent de proveniență, cel mai mic procent de germinare (12,9%) a fost înregistrat la tratamentul cu H_2SO_4 , iar cel mai mare procent (8,6%) a fost înregistrat la aplicarea soluției cu Atonik (Figura 2.5c).

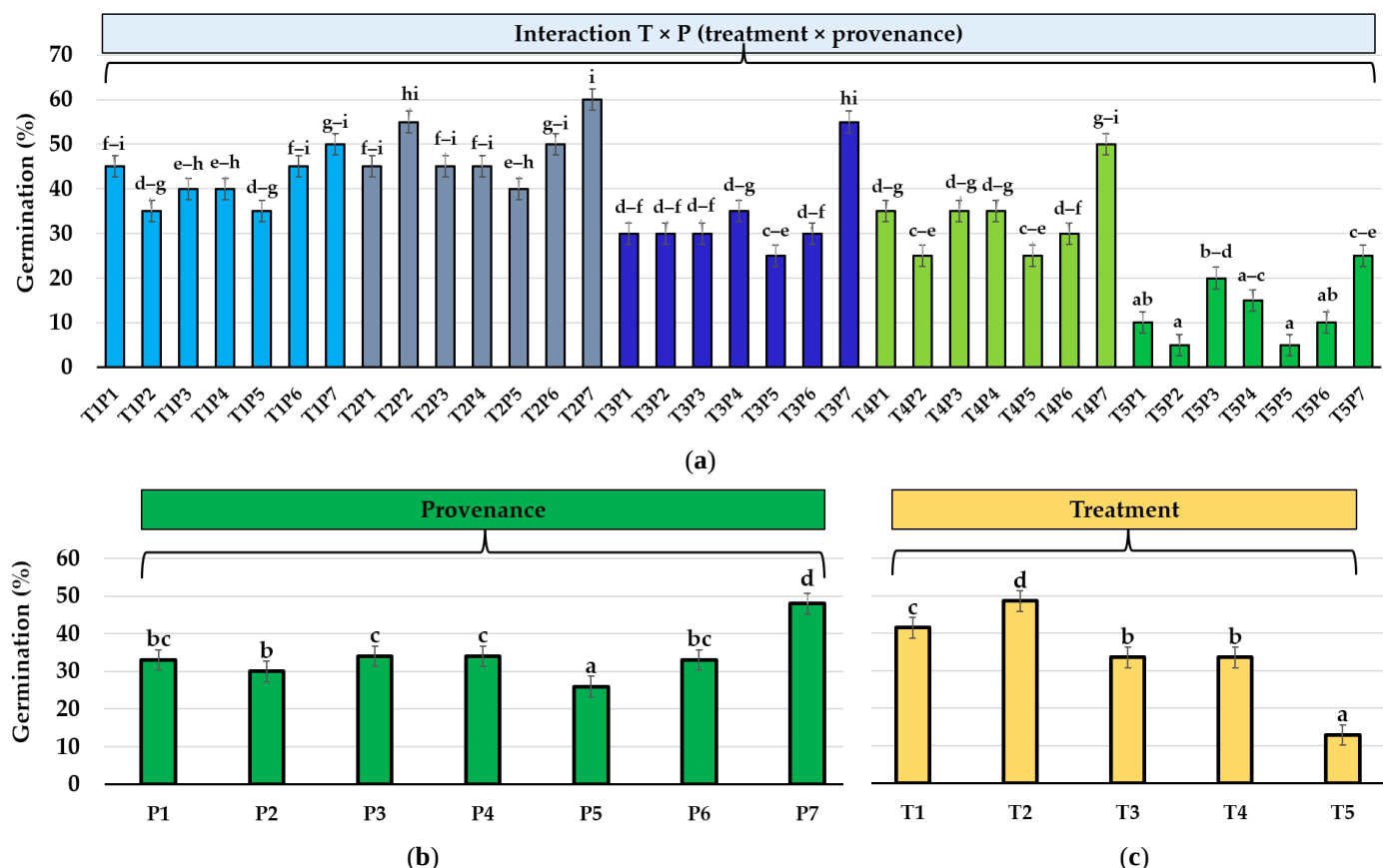


Figura 2.5 Influența factorilor experimentali asupra procentajului de germinare a semințelor (%), exprimate ca medii $\pm$ EPM (respectiv, valoarea F și valoarea p, test ANOVA)

Notă: (a) influența combinată a celor doi factori experimentali: tratament și proveniență geografică ($T \times P$) ($F = 79.2$, $p = 0.000$); (b) influența unilaterală a provenienței (P: P1-Valea Bistrei; P2-Someșul Rece; P3-Avrig; P4-Budescu; P5-Sohodol; P6-Valea Morii; P7-Gârda Seacă) ($F = 5374.5$, $p = 0.000$); (c) influența unilaterală a tratamentului (T: T1-control; T2-Atonik; T3-scarificare; T4-acetona; T5-H₂SO₄) ($F = 281.4$, $p = 0.000$). În cadrul fiecărei interacțiuni ($T \times P$), proveniența sau tratamentul marcat au indicat diferențe semnificative.

2.4. Indicii de germinare

Principali indicii de germinare ai semințelor de *A. alba* prezintă diferențe semnificative în funcție de tratamentele de stimulare a germinării și de originile geografice (Tabelul 2.3). Tratamentul cu Atonik a determinat cea mai mare valoare a indicelui procentului de germinare (GP) (%), care a variat între 40% pentru proveniența Sohodol și 60% pentru proveniența Gârda Seacă.

Cele mai mari valori pentru indicele de germinare (GI) au fost înregistrate în Valea Bistrei pentru semințele din varianta control ($GI = 1,3$) și de proveniența Gârda Seacă pentru semințele tratate cu Atonik ($GI = 1,3$). Viteza de germinare (SE) a variat între 11,1 și 100,0, iar coeficientul de viteză a germinării (CRG) a oscilat între 2,3 și 10,3. Indicele de vigurozitate a plantulelor (SVI) a prezentat valori cuprinse între 0,29 (H₂SO₄/Sohodol) și 7,57 (Atonik/Gârda Seacă).

Tabelul 2.3

Principali indicii de germinare ai semințelor de *A. alba* în funcție de tratamentele de stimulare a germinării și proveniențele geografice

Treatment	Proveniența	Indicii de germinare ¹				
		GP	GI	SE	CRG	SVI
Control (Fără tratament)	Valea Bistrei	45.0 ^a	1.3 ^a	33.3 ^a	10.3 ^a	4.8 ^b
	Someșul Rece	35.0 ^c	0.4 ^e	28.6 ^b	5.3 ^c	4.4 ^c
	Avrig	40.0 ^b	0.5 ^d	12.5 ^d	5.3 ^c	2.9 ^e
	Budescu	35.0 ^c	0.4 ^e	28.6 ^b	5.3 ^c	3.8 ^d
	Sohodol	35.0 ^c	0.4 ^e	28.6 ^b	5.3 ^c	3.0 ^e
	Valea Morii	45.0 ^a	0.8 ^c	11.1 ^e	7.2 ^b	4.3 ^c
	Gârda Seacă	50.0 ^a	1.1 ^b	20.0 ^c	7.5 ^b	6.1 ^a
Atonik	Valea Bistrei	45.0 ^b	0.8 ^c	11.1 ^d	5.9 ^c	4.7 ^b
	Someșul Rece	55.0 ^a	1.1 ^b	18.2 ^c	6.5 ^b	7.10 ^a
	Avrig	45.0 ^b	0.6 ^e	22.2 ^b	5.9 ^c	3.3 ^c
	Budescu	45.0 ^b	1.0 ^b	22.2 ^b	8.0 ^a	4.9 ^b
	Sohodol	40.0 ^c	0.8 ^c	12.5 ^d	7.7 ^a	3.7 ^c
	Valea Morii	50.0 ^{ab}	1.0 ^b	20.0 ^{bc}	6.5 ^b	4.6 ^b
	Gârda Seacă	60.0 ^a	1.3 ^a	25.0 ^a	7.3 ^{ab}	7.6 ^a
Scarificare	Valea Bistrei	30.0 ^c	0.3 ^c	16.7 ^d	2.3 ^d	3.1 ^c
	Someșul Rece	30.0 ^c	0.3 ^c	50.0 ^b	5.4 ^b	3.7 ^b
	Avrig	30.0 ^c	0.5 ^b	50.0 ^b	6.5 ^a	2.2 ^e
	Budescu	35.0 ^b	0.5 ^b	28.6 ^c	5.6 ^b	3.7 ^b
	Sohodol	25.0 ^d	0.3 ^c	60.0 ^a	6.0 ^{ab}	2.1 ^e
	Valea Morii	30.0 ^c	0.3 ^c	50.0 ^b	4.8 ^c	2.7 ^d
	Gârda Seacă	55.0 ^a	1.2 ^a	27.3 ^c	6.5 ^a	6.5 ^a
Acetonă	Valea Bistrei	35.0 ^c	0.5 ^c	28.6 ^c	5.9 ^{bc}	3.7 ^a
	Someșul Rece	25.0 ^b	0.3 ^e	60.0 ^a	5.5 ^c	3.2 ^b
	Avrig	35.0 ^e	0.5 ^c	42.9 ^b	6.5 ^b	2.5 ^c
	Budescu	35.0 ^b	0.6 ^b	14.3 ^d	5.9 ^{bc}	3.7 ^a
	Sohodol	25.0 ^e	0.4 ^d	40.0 ^b	6.0 ^{bc}	2.1 ^d
	Valea Morii	30.0 ^d	0.3 ^e	16.7 ^d	4.7 ^d	2.6 ^c
	Gârda Seacă	35.0 ^a	0.7 ^a	14.3 ^a	7.4 ^a	3.8 ^a
H ₂ SO ₄	Valea Bistrei	10.0 ^d	0.1 ^c	50.0 ^c	5.7 ^b	1.0 ^d
	Someșul Rece	5.0 ^e	0.0 ^e	100.0 ^a	3.6 ^d	0.6 ^f
	Avrig	20.0 ^b	0.2 ^b	25.0 ^d	4.8 ^c	1.4 ^c
	Budescu	15.0 ^c	0.1 ^c	66.7 ^b	4.3 ^c	1.6 ^b
	Sohodol	5.0 ^e	0.0 ^e	100.0 ^a	3.6 ^d	0.3 ^g
	Valea Morii	10.0 ^d	0.1 ^c	50.0 ^c	5.7 ^b	0.9 ^e
	Gârda Seacă	25.0 ^a	0.5 ^a	20.0 ^d	6.5 ^a	2.7 ^a

Notă: Indicii de germinare: GP-procentul de germinare; GI-indicele de germinare; SE-viteza de apariție; CRG-coeficientul vitezei de germinare; SVI-indicele de vigoare al răsadurilor. Pentru fiecare index și tip de tratament, diferențele semnificative între mediile proveniențelor sunt ilustrate cu litere diferite (Testul Duncan pentru multiple intervale, $p < 0.05$).

Conform datelor prezentate în Figura 2.6, analiza post hoc a evidențiat similarități între anumiți indici de germinare, calculați ca valori medii pe întregul experiment la cele șapte proveniențe de brad. Unele similarități vizibile în grafice au fost confirmate și statistic prin testul Duncan MRT. De exemplu, tratamentele de stimulare a germinării au avut efecte identice în ceea ce privește procentul de germinare (GP) și indicele de germinare (GI) (Figura 2.6a, b). Pentru

ambii indici analizați, Atonikul a determinat cele mai mari valori, iar H_2SO_4 a determinat cele mai mici valori. De asemenea, au fost înregistrate valori extreme, pozitive în cazul soluției cu Atonik și negative în cazul H_2SO_4 , pentru viteza de germinare (CRG) și indicele de vigurozitate al plantulelor (SVI).

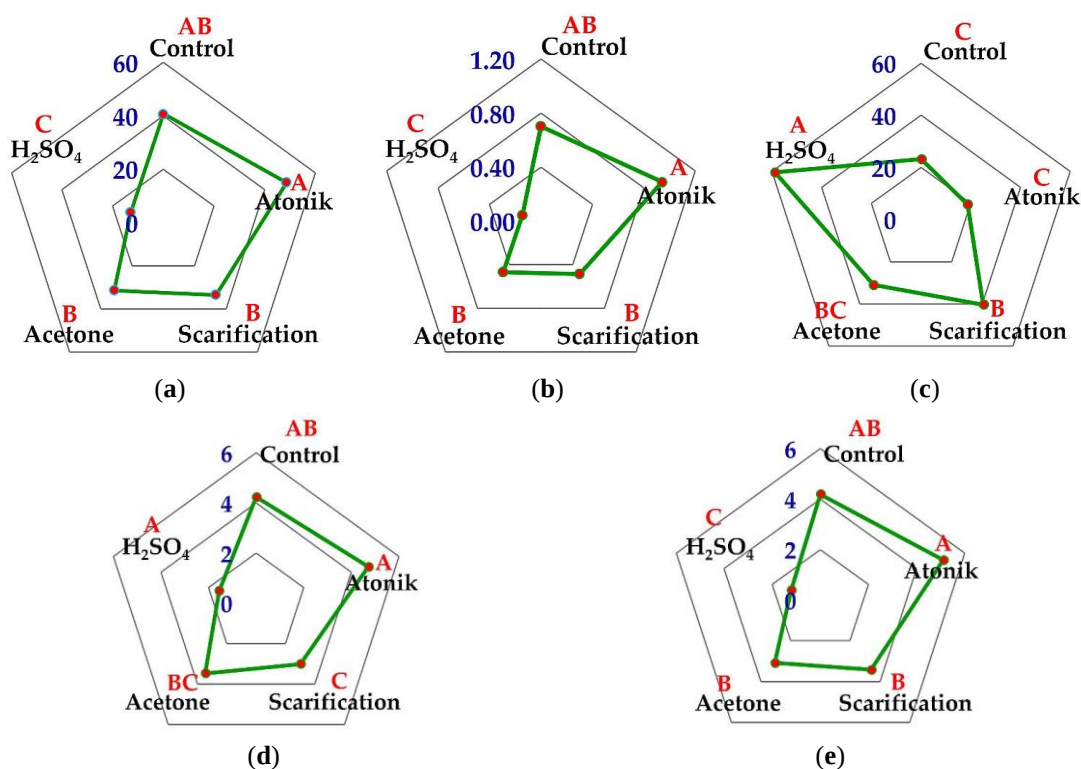


Figura 2.6 Influența tratamentelor de stimulare a germinării semințelor asupra indicilor de germinare, calculați ca medii ale celor șapte proveniențe de brad (medii $\pm$ SEM)

Notă: (a) procentajul de germinare (GP); (b) indicele de germinare (GI); (c) viteza de apariție (SE); (d) coeficientul vitezei de germinare (CRG); (e) indicele de vigoare al răsadurilor (SVI). Pentru fiecare indice, diferențele semnificative între medii sunt ilustrate cu litere diferite (Testul Duncan pentru multiple intervale, $p < 0.05$).

În Figura 2.6d, e, formele graficelor sunt relativ apropiate pentru cei doi indici, în timp ce diferențele înregistrate au fost pentru tratamentele de scarificare a semințelor și utilizarea acetonei. Cele mai evidente diferențe între indicii de germinare au fost înregistrate pentru viteza de germinare (SE) (Figura 2.6d). Pentru acest indice, soluția de Atonik a determinat cea mai mică valoare, iar tratamentul cu H_2SO_4 a determinat cea mai mare valoare, urmată de scarificarea semințelor.

2.5. Analiza multivariată

Analiza componentelor principale (PCA) ilustrată în Figura 2.7 oferă o prezentare sintetică a dimensiunii setului de date reprezentate de variabilele caracteristicilor morfologice ale conurilor și semințelor provenite din șapte proveniențe de brad din România, precum și a germinării semințelor în funcție de cele cinci tratamente de stimulare. Prima componentă a PCA,

sau PC1, a ilustrat 54,0% din variația totală măsurată, în timp ce a doua componentă, sau PC2, a ilustrat 23,5%.

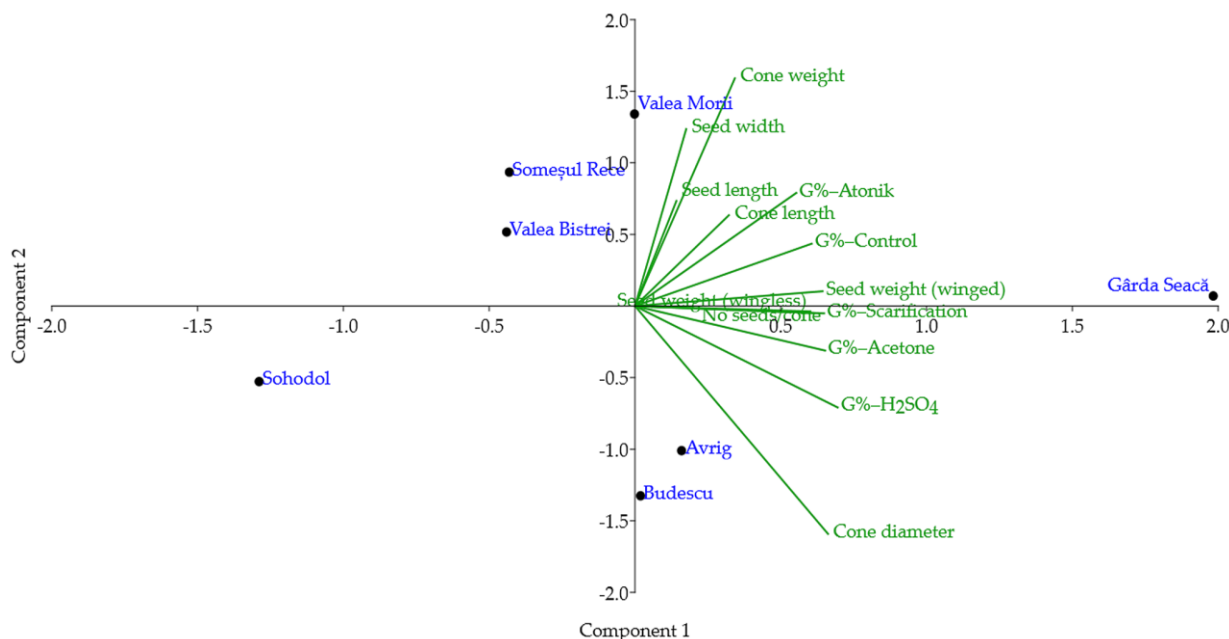


Figura 2.7 Dendrograma ierarhică a analizei de cluster - metoda UPGMA (Metoda Grupurilor Pereche Neponderate cu Media Aritmetică) - indicele de similaritate (Euclidian), bazată pe trăsăturile conurilor și semințelor analizate din șapte surse românești de brad și germinarea semințelor (G%) folosind cinci tratamente de stimulare a germinației (Control; Atonik; Scarificare; Acetonă; H₂SO₄) aplicate semințelor

PCA evidențiază locațiile opuse ale proveniențelor Gârda Seacă și Sohodol și distanța foarte mare dintre acestea. În schimb, populațiile Avrig și Budescu, în colțul din dreapta jos, sunt poziționate la o distanță apropiată. Proveniențele Someșul Rece și Valea Bistrei se află într-o situație similară, în partea din stânga sus. De asemenea, se observă că toate caracteristicile morfologice ale conurilor și semințelor se află la dreapta axei O-Y, dar unele sunt în sfertul superior și altele în sfertul inferior. În aceleași sferturi se află și valorile germinării semințelor din cele cinci tratamente de stimulare a germinării, cu o dispersie relativ scăzută.

Figura 2.8 prezintă proveniențele geografice și caracteristicile morfologice ale conurilor și semințelor, precum și germinarea semințelor supuse celor cinci tipuri de tratamente de stimulare, bazându-se pe gruparea variabilelor și nivelurile lor de similaritate. Dendrograma validează rezultatele dispersiei, atât în ceea ce privește modelul de formare a clusterelor, cât și nivelurile de similaritate sau distanța clusterelor ce conțin proveniențele investigate la brad. Distanța față de restul populațiilor la proveniența Gârda Seacă este evidențiată în gruparea verticală pentru origine (subliniată și de PCA). De asemenea, se confirmă relația strânsă dintre proveniențele Avrig și Budescu, precum și dintre proveniențele Someșul Rece și Valea Bistrei.

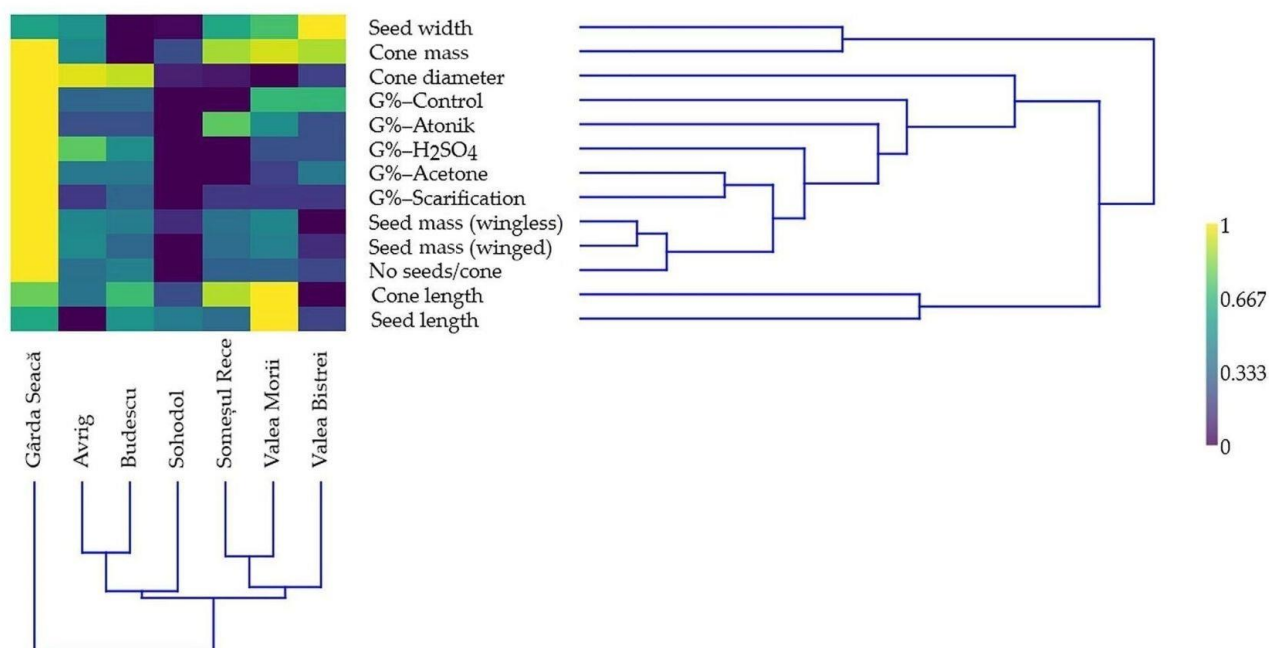


Figura 2.8 Analize multivariate pentru caracteristicile studiate: clustere ierarhice, algoritmul grupului pereche (UPGMA), indicele de similaritate Euclidian al conurilor, semințelor și germinării, respectiv al celor șapte proveniențe geografice de brad

În clusterul de mai sus, sunt diferențiate două subclustere, cel de sus având doar două ramuri, pe care sunt plasate lățimea seminței și masa conului, iar cel de jos conține multiple subclustere. Lungimea conului și lungimea seminței sunt grupate într-un singur subcluster (cel de jos), în timp ce diametrul conului se află pe o ramură distinctă. În cadrul acestuia, apropierea așteptată dintre masa semințelor cu și fără aripi este confirmată. Numărul de semințe din con este poziționat pe o ramură apropiată. Germinarea semințelor este aranjată în funcție de tratamentul de stimulare pe subclustere subordonate și este completată cu un subcluster comun în care tratamentele cu acetone și scarificarea sunt strâns grupate. Omogenitatea în Gârda Seacă pentru trăsăturile analizate este foarte vizibilă pe planul vertical al hărții, cu tendință spre maxim în majoritatea cazurilor. În schimb, o omogenitate mare este observată în direcția opusă, spre o lipsă de corelație, la proveniența Sohodol.

Au fost găsite asocieri statistic semnificative prin calcularea coeficientilor de corelație Pearson între caracteristicile examinate ale conurilor, semințelor și germinarea semințelor (G%) în funcție de tratamentele de stimulare (Tabelul 2.4).

Tabelul 2.4

Corelațiile Pearson între perechile de trăsături analizate și germinarea semințelor G%, în funcție de tratamentele folosite (sub diagonală) și valoarea p a corelației (deasupra diagonalei)

Trăsături corelate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1. Lung. con		0.96	0.31	0.57	0.09	0.90	0.19	0.11	0.80	0.10	0.45	0.90	0.80
2. Diam. con	0.02		0.09	0.53	0.53	0.57	0.14	0.14	0.44	0.69	0.13	0.05	0.01
3. Nr. sem./con	0.45	0.69		0.42	0.66	0.74	0.00	0.00	0.07	0.03	0.00	0.01	0.02
4. Greut. con	0.26	-0.29	0.37		0.60	0.01	0.31	0.52	0.19	0.08	0.44	0.55	0.84
5. Lung. sem.	0.68	-0.29	0.21	0.24		0.93	0.59	0.46	0.44	0.46	0.61	0.93	0.86
6. Lățim. sem.	-0.06	-0.27	0.15	0.87	-0.04		0.66	0.95	0.22	0.38	0.82	0.66	0.90
7. Greut. sem. ¹	0.56	0.62	0.96	0.45	0.25	0.20		0.00	0.10	0.02	0.01	0.03	0.02
8. Masa sem. ²	0.65	0.62	0.92	0.30	0.34	-0.03	0.97		0.22	0.04	0.01	0.07	0.04
9. G%-Control	0.12	0.35	0.71	0.56	0.35	0.53	0.67	0.53		0.26	0.07	0.02	0.10
10. G%-Atonik	0.67	0.19	0.80	0.70	0.34	0.40	0.84	0.78	0.50		0.05	0.23	0.36
11. G%-Scarificare	0.34	0.63	0.97	0.35	0.23	0.11	0.90	0.87	0.73	0.76		0.00	0.04
12. G%-Acetonă	0.06	0.75	0.90	0.27	0.04	0.21	0.81	0.72	0.84	0.53	0.91		0.00
13. G%-H ₂ SO ₄	0.12	0.90	0.85	0.09	-0.08	0.06	0.82	0.77	0.68	0.41	0.79	0.92	

Corelația este semnificativă la nivelul $p < 0.05$; 0.01; 0.001 (bilateral). ¹ Masa semințelor cu aripi; ² Masa semințelor fără aripi.

Toate corelațiile validate statistic au fost pozitive, nu s-au găsit corelații semnificativ negative între perechile de variabile investigate. Nu au fost observate corelații apropiate între caracteristicile morfologice ale conurilor (lungimea și diametrul), ale semințelor și germinarea semințelor, cu o singură excepție. Aceasta a fost reprezentată de corelația neașteptată dintre diametrul conului și germinarea semințelor după tratamentul cu acid sulfuric ($r = 0.90^{**}$).

Numărul de semințe din con și masa semințelor au fost corelate între ele, dar au fost corelate și cu majoritatea variabilelor analizate. S-a constatat că există o corelare strânsă cu procentul de germinare al semințelor care au fost tratamente cu soluție de Atonik, acetonă, scarificate și H₂SO₄. Un rezultat interesant a fost că, procentul de germinare al semințelor netratate (fără stimulare a germinării) nu a fost influențat semnificativ de numărul de semințe din con sau de masa semințelor cu aripi sau fără aripi. Corelațiile pentru germinarea semințelor (G%) în funcție de tratamentele aplicate au fost înregistrate astfel: acetonă-scarificare, H₂SO₄-acetonă ($p < 0.001$); acetonă-control/netratate ($p < 0.01$); scarificare-Atonik, H₂SO₄-scarificare ($p < 0.05$).

2.6 Discuții

Îmbunătățirea calității semințelor de brad este o provocare, iar capacitatea de germinare variază substanțial între loturile de semințe (5% și 80%). Din această cauză, generarea este costisitoare și ineficientă, în special în pepinierele care produc puieți containerizați (McCartan și Jinks, 2015). Conform rezultatelor obținute, proveniențele geografice influențează caracteristicile morfologice ale conurilor și semințelor de *A. alba*. În cadrul proveniențelor investigate, limitele

pentru trăsăturile conurilor au variat mult, atât în interiorul proveniențelor, cât și între acestea, iar o variabilitate similară a fost observată și pentru caracteristicile semințelor. Conform literaturii de specialitate, semințele mari tind să aibă un procent mai mare de germinare, în principal pentru că se presupune că acestea conțin mai multe resurse pentru a sprijini un astfel de proces biologic intensiv, care necesită multă energie (Kheloufi și colab., 2018). Mai mult, semințele mari sau grele pot produce puiți de calitate mai bună și mai sănătoși [66]. Totuși, deși masa semințelor are o corelație puternică cu eficiența germinării, semințele mai mari nu germinează întotdeauna mai bine decât semințele mici (Xu și colab., 2016). În studiul nostru, proveniența Gârda Seaca a înregistrat valorile cele mai mari și a prezentat o germinare mai bună pentru toate tratamentele aplicate. Semințele cele mai groase din proveniența Valea Bistriței au prezentat, de asemenea, un procent bun de germinare. Caracteristicile semințelor pot influența distanța de dispersie, care este un element esențial în structura genetică a populațiilor de arbori forestieri. Dispersia semințelor este corelată invers cu greutatea seminței, dar această deficiență poate fi parțial compensată de lungimea aripioarelor semințelor (Cremer și colab., 2012).

Germinarea a fost influențată de morfologia semințelor, genotipul și condițiile de mediu din zona de proveniență (Roman și colab., 2022; Ganatsas și colab., 2013). Semințele recoltate din locațiile caracterizate prin parametri de mediu diferiți, cum ar fi populații distincte (proveniențe), prezintă diferențe semnificative în procesul de germinare (Giuliani și colab., 2019), iar acest aspect ar trebui să fie întotdeauna luat în considerare atunci când se achiziționează material biologic.

Pentru toate tehnicile de stimulare a germinării, germinarea semințelor a variat între proveniențele testate. Procentul de germinare nu a crescut folosind tratamentul cu acid sulfuric. Un astfel de rezultat poate fi rezultatul efectelor dăunătoare ale mediului acid, care probabil a deteriorat embrionul, nu doar tegumentele semințelor. Mai multe studii au demonstrat că utilizarea acidului sulfuric a fost mai eficient decât alte tratamente pentru diferite specii forestiere (Mirzaei și colab., 2013; Roman și colab., 2022; Kheloufi și colab., 2018). Pentru a întrerupe dormanța seminței, tegumentul trebuie deteriorat; în condiții naturale, această "deteriorare" se produce ca urmare a acțiunii mai multor factori asupra tegumentului seminței, cum ar fi temperaturi scăzute (înghețuri), temperaturi ridicate (incendii), etc. (Lamont și colab., 2019). Scarificarea semințelor de brad nu a reușit să producă un procent ridicat de germinare în condițiile noastre experimentale, dar, în contrast, Atonikul, un biostimulator folosit pentru a stimula atât germinarea semințelor, cât și înrădăcinarea puietilor (Truța și colab., 2020), a îmbunătățit semnificativ germinarea pentru toate proveniențele de brad. Atonikul este utilizat frecvent pentru a îmbunătăți germinarea semințelor și creșterea vegetativă prin activarea metabolismului celular al plantelor, îmbunătățind creșterea plantelor (Djanaguiraman și colab.,

2005). Rolul Atonik-ului în stimularea creșterii rădăcinilor ajută planta să fie mai activă în absorbția substanțelor nutritive și stimulează creșterea vegetativă (Covasa și colab., 2003; Banful și colab., 2017).

Indicii de germinare pot oferi informații utile pentru prognozarea procentului de semințe germinate, numărul absolut de semințe care germinează în timp, etc. Fiabilitatea indicilor de germinare este influențată de diverse variabile genetice și de mediu, precum și de interacțiunea dintre numeroși factori care influențează biologia și fiziologia semințelor (Chiapusio și colab., 1997; Javaid și colab., 2022). Predicțiile privind germinarea finală sau timpul de germinare pot fi utile pentru a lua decizii economice în gestionarea materialului reproducător, precum și din perspectiva modelării și cercetărilor fundamentale (Stoian-Dod și colab., 2023).

Analiza multivariată PCA, dendrogramele și corelațiile între variabile, furnizează informații valoroase pentru identificarea surselor viabile de semințe și sunt utile pentru regenerarea bradului. Corelațiile strânse identificate între unele elemente morfologice ale semințelor și germinarea acestora pot fi folosite eficient în creșterea bradului ca indici indirecți de selecție, sau în practica silvică în vederea producerii de material biologic valoros pentru împăduriri și reîmpăduriri (Roman și colab., 2020). Datele PCA și clustering-ul ierarhic oferă informații despre posibilitatea identificării celor mai valoroase surse de semințe dintre cele evaluate, precum și modele pentru cercetări ulterioare.

Cercetarea a realizat o evaluare a caracteristicilor semințelor și teste de germinare, pentru diferite proveniențe de brad din România. Populațiile de brad analizate pe baza trăsăturilor reproductive au prezentat variabilitate fenotipică, precum și diferențe procesul de germinare și creșterea ulterioară a puieților. În studiul analizat, tratamentul cu biostimulatorul Atonik a îmbunătățit semnificativ germinarea pentru toate proveniențele de brad. Printre proveniențele evaluate, Gârda Seacă a demonstrat o germinare bună a semințelor și poate fi recomandată ca o sursă semnificativă de semințe, precum și pentru viitoare programe de reproducere. Aceste evaluări ar putea îmbunătăți strategia silviculturală a speciei și ar ajuta la identificarea surselor valoroase de semințe. De asemenea, au fost identificate tratamente distincte care pot stimula capacitatea de germinare a bradului, ceea ce ar putea avea implicații benefice pentru programele de împădurire.

Capitolul 3

GERMINAREA SEMINTELOR ȘI DEZVOLTAREA PUIEȚILOR DE SALCÂM (*Robinia pseudoacacia*) ÎN VEDEREA IDENTIFICĂRII UNOR RESURSE GENETICE VALOROASE

3.1 Introducere

Salcâmul (*Robinia pseudoacacia* L., familia Fabaceae) este o specie forestieră bine cunoscută, originară din partea estică a Americii de Nord, de unde a fost larg răspândită în întreaga lume (Vítková și colab., 2017). Specia a fost introdusă în Europa la începutul secolului al XVII-lea și are acum o distribuție semnificativă, de la climatul submediteranean până la cel continental cald (Cierjacks și colab., 2013; Giuliani și colab., 2019).

Din punct de vedere ecologic, are capacitatea de a coloniza rapid un teren expus eroziunii. În ceea ce privește utilitatea, specia are o creștere accelerată, producând rapid biomasă utilă. Astfel, este plantată pe scară largă pentru a controla eroziunea solului, în special în regiunile cu terenuri miniere sau nisipoase; utilizată în perdele forestiere și în scopuri ornamentale; plantată pentru refacerea forestieră; apreciată ca specie meliferă și fixatoare de azot, iar lemnul său are multiple întrebuințări practice (Zhang și colab., 2016).

Salcâmul se reproduce sexual și asexual; se poate înmulți prin semințe, butași de rădăcină sau drajoni. Pentru studiile de ameliorare, se ia în considerare reproducerea generativă: aceasta produce variație genetică în generațiile de descendenți (exploatarea variabilității în acest mod), puietii au o rată ridicată de supraviețuire, iar specia se poate adapta cu ușurință la noi medii (Roman și colab., 2022).

În arealul său natural și cel introdus, regenerarea naturală a salcâmului este în principal vegetativă; totuși, specia se răspândește și prin reproducere sexuală, cu flori hermafrodite polenizate de albine și cu producție prolifică de semințe și dispersare (Giovanetti și Aronne, 2013). Maturarea semințelor are loc de la sfârșitul verii până la începutul toamnei, iar păstăile sunt eliberate din septembrie până în aprilie.

Succesul sau eșecul regenerării generative depinde, în general, de capacitatea semințelor de a germina în diferite condiții de mediu, cum ar fi temperatura, disponibilitatea apei și lumina (Pinna și colab., 2014). Acești factori pot varia considerabil, astfel încât impactul lor asupra tuturor proceselor fiziologice poate fi esențial atât pentru supraviețuire, cât și pentru stabilirea puietilor (Giuliani și colab., 2015; Ganatsas și colab., 2013).

Semințele de salcâm (*Robinia pseudoacacia*) se caracterizează printr-o dormanță exogenă, datorită structurii tegumentului seminței, care este impermeabil la apă. Din acest motiv, este necesar să se aplice stratificarea, precum și tratamente termice sau chimice. În acest mod, se

poate influența imbibitiția și desfășurarea proceselor germinative, iar etapa de dormanță poate fi inhibată. În absența tratamentelor de germinare, tegumentul seminței de salcâm poate fi deteriorat fie de temperaturi scăzute (înghețuri), fie de temperaturi ridicate (inclusiv incendii), sau prin activitatea microflorei solului. Din motive economice și de cercetare, se utilizează în prezent mai multe metode (Roman și colab., 2022): scarificarea mecanică, precum și proceduri chimice și termice pentru creșterea capacității de germinare. Astfel, este recomandat ca fiecare lot de semințe să fie testat separat pentru a determina durata adecvată a metodelor de înmuiere și tipul de amestecuri utilizate, precum și concentrația acestora, datorită variabilității structurii și permeabilității tegumentului seminței (DeGomez și Wagner, 2001).

În literatura de specialitate sunt descrise diferite soluții, concentrații și durate ale metodelor utilizate pentru a întrerupe dormanța semințelor de salcâm și pentru a testa germinarea acestora.

Având în vedere utilizările multiple și valoroase ale salcâmului, dar și caracteristicile sale nedorite, comportamentul speciei merită studiat sub influența diferiților factori de mediu, pentru a estima zonele geografice care ar putea fi invadate de *R. pseudoacacia*, în perspectiva planificării gestionării și reglementării biodiversității (Bouteiller și colab., 2021). Corelat cu utilitatea salcâmului, utilizarea sa frecventă în prezent și răspândirea invazivă, toate etapele, de la recoltarea semințelor până la germinare și creșterea ulterioară a arborilor, trebuie luate în considerare. Regenerarea din semințe este acum considerată un factor determinant important în succesul invaziei sau al modelului de răspândire al salcâmului (Masaka și colab., 2009), iar rolul factorilor abiotici este esențial pentru a înțelege răspunsurile germinative ale semințelor dispersate (Hidayati și colab., 2001). Mai mult, în Europa, informațiile despre regenerarea prin semințe sunt insuficiente pentru o gestionare corectă a speciei, iar cerințele de germinare nu sunt pe deplin clarificate (Giuliani și colab., 2015). În acest sens, studiile care încearcă să integreze astfel de factori (de exemplu, originea semințelor și caracteristicile acestora, tratamentele de germinare, creșterea puieților) pentru a obține o imagine generală asupra procesului de producere a materialului reproducător valoros pentru specie sunt binevenite (Roman și colab., 2022). Materialul reproducător forestier (MRF) este, în general, considerat o denumire generică pentru semințe, conuri, butași și material săditor utilizat în înființarea pădurilor. Vigoarea semințelor este definită ca suma trăsăturilor care determină nivelul de activitate și performanță al seminței în timpul germinării și răsăririi puieților (ISTA, 2013).

Studiul actual își propune să ofere o imagine completă a speciei, pornind de la recoltarea semințelor din locații separate, testarea germinării pe baza diferitelor tratamente, interpretarea datelor privind germinarea folosind cele mai potrivite formule din literatura de specialitate,

precum și corelarea tuturor datelor obținute cu creșterea puieților de *R. pseudoacacia*, pentru a investiga posibilele relații stabilite.

3.2 Material și metode

Material biologic a fost reprezentat de semințe de salcâm provenite din opt origini românești (Figura 3.1): Bistrița-Năsăud (RNP Romsilva OSE Lechința, UP.7, u.a.80C, coordonate 47°00' N / 24°20' E); Galați (RNP Romsilva OS Tecuci, UP.VI, u.a.49B, coordonate 45°46' N / 27°30' E); Iași (RNP Romsilva OS Iași, UP.III, u.a.105E, coordonate 47°25' N / 27°20' E); Satu Mare (OS Carei, UP.III, u.a.57L, 58A, coordonate 47°42' N / 22°24' E); Botoșani (RNP Romsilva OS Darabani, UP.III, u.a.26D, coordonate 48°02' N / 27°01' E); Arad (Livada privată Barzani, proprietar Ruben Budău, coordonate 46°19' N / 21°40' E); Râmnicu Vâlcea (RNP Romsilva OS Stoiceni, UP.II, u.a.5L, 5M, coordonate 45°03' N / 24°26' E) și Bihor (RNP Romsilva OS Săcuieni, UP.IV, u.a.45C, coordonate 47°32' N / 22°09' E).

Toate proveniențele reprezintă arborete forestiere incluse în Catalogul Național al Resurselor Genetice Forestiere și Materialelor Reproductive Forestiere (Pârnută și colab., 2011). Semințele utilizate în această cercetare au fost procurate de la furnizori oficiali, din rezervațiile respective de semințe din România.

Proveniențele de *R. pseudoacacia* se disting prin diferiți parametri ecologici, cum ar fi temperatura medie anuală (°C), precipitațiile medii anuale (mm) și altitudinea (m deasupra nivelului mării, Figura 3.1). Originea semințelor a fost luată în considerare, deoarece aceasta ar putea influența procesul de germinare și dezvoltarea ulterioară a puieților, constituind astfel o parte a investigației actuale.

O sortare vizuală a semințelor de *R. pseudoacacia* a fost efectuată utilizând ca criteriu starea exterioară, păstrând doar semințele fără deteriorări vizibile pentru studiu. Ulterior, semințele au fost depozitate în locuri bine ventilate (la o temperatură interioară de 20 °C) timp de aproximativ 6 luni. Înainte de însămânțarea în teren, s-au realizat mai multe măsurători ale principalelor trăsături fenotipice ale semințelor: lungime, lățime și grosime (mm), precum și greutatea (g), pentru a fi corelate ulterior cu procesul de germinare. În luna august a anului de însămânțare, s-au efectuat primele măsurători asupra puieților de *R. pseudoacacia* obținuți: înălțimea și diametrul (cm), prezentate ca o medie pentru fiecare proveniență. După creșterea puieților, în al patrulea an de viață, a fost posibilă determinarea suplimentară a numărului de ramificații - numărul de ramuri pe tulpina (axa) plantelor.



Figura 3.1 Proveniențele de salcâm luate în studiu

Stimularea germinării

Un aspect important al studiului a fost reprezentat de investigarea procesului de germinare, utilizând diferite tratamente și efectuând măsurători repetate. Germinarea semințelor de salcâm a fost investigată folosind 200 de semințe/tratament (50 de semințe $\times$ 4 repetiții) în cutii Petri, folosind hârtia de filtru.

Tratamentele folosite

Primul tratament s-a referit la metoda de scarificare mecanică, utilizând șmirghel abraziv până când tegumentul a fost vizibil deteriorat (Bouteiller și colab., 2021).

Al doilea tratament (tratamentul termic) a cuprins semințe înmuiate în apă la diferite temperaturi (Giuliani și colab., 2019); semințele au fost scufundate timp de 10 minute în apă la temperaturi de 100 °C, 70 °C și 40 °C.

Pentru al treilea tratament, semințele au fost înmuiate timp de 10 minute într-o soluție de biostimulator (Foliplant, 0,9%) (Campobenedetto și colab., 2020).

Al patrulea tratament a utilizat o soluție de acetonă (90%) pentru o înmuiere de 10 minute (Paulsen și colab., 2013).

Toate semințele au fost umezite cu apă distilată înainte de aplicarea tratamentului. Măsurătorile au fost efectuate zilnic timp de 14 zile, începând cu a doua zi după instituirea tratamentelor de germinare. Pentru lotul de control, semințele au fost doar umezite, la nevoie, cu apă distilată, pentru a menține umiditatea pe durata perioadei de investigație.

Parametrii analizați ai germinării

Pentru a avea o imagine completă a procesului de germinare, au fost calculați următorii indici, folosind formulele și metodologia din literatură:

GP (Procentul de germinare, %):

$$GP = \text{Numărul de semințe germinate pe zi} / \text{Numărul total de semințe germinate} \times 100$$

GI (Indicele de germinare):

$$GI = \text{Numărul de semințe germinate} / \text{Zile de la prima citire} + \dots + \text{Numărul de semințe germinate} / \text{Zile de la prima citire}$$

Determinările au fost realizate pe o perioadă totală de 15 zile

SE (Viteza de germinare/Energia germinativă):

$$SE = \text{Numărul de semințe germinate în prima zi de germinare} / \text{Numărul de semințe germinate în ultima zi de germinare} \times 100$$

CRG (Coeficientul de viteză a germinării):

$$CRG = [(n_1 + n_2 + n_n) / ((n_1 \times T_1) + (n_2 \times T_2) + (n_3 \times T_3) + \dots)] \times 100$$

- n_1 = număr de semințe germinate în ziua 1 (T_1)
- n_2 = număr de semințe germinate în ziua 2 (T_2)
- n_n = număr de semințe germinate în ziua n (T_n)

SVI (Indicele de vigoare a plantulelor):

$$SVI = [\text{Lungimea plantulelor (mm)} \times \text{Procentul de germinare}] / 100.$$

Prelucrarea datelor statistice

Datele înregistrate pentru semințe și puieți au fost prelucrate ca medii ale trăsăturilor și eroare standard a mediei (SEM). Reprezentarea grafică a relațiilor dintre germinarea semințelor și principalele trăsături ale semințelor a fost realizată folosind estimarea densității bivariate, utilizând software-ul Wessa (Wessa, 2022). Analiza varianței (ANOVA unidirecțională) a fost aplicată trăsăturilor analizate, iar apoi testul Duncan ($p < 0.05$) a fost utilizat ca test post-hoc pentru analiza diferențelor. Printre procedurile generale de comparații multiple, testul de gamă multiplă Duncan (Duncan's MRT, $p < 0.05$) a fost considerat cel mai potrivit pentru datele obținute și seturile de comparații ale mediilor (Sestras, 2018). Corelațiile Pearson între trăsăturile analizate au fost calculate, iar regresia liniară a fost realizată considerând germinarea semințelor în funcție de numărul de zile sau germinarea și principalele trăsături ale semințelor. Datele au fost supuse unei metode multivariate, și anume analizei de corespondență canonică (CCA). A fost creat un grafic de analiză principală a componentelor multivariate pentru cele opt proveniențe de *R. pseudoacacia* utilizând software-ul Past; același software a fost folosit și pentru construirea unei dendrograme pentru distanțele euclidiene între proveniențe și trăsăturile investigate.

3.3 Rezultate

Caracteristicile semințelor

Trăsăturile semințelor, cum ar fi grosimea, lungimea, lățimea și greutatea, sunt reprezentate printr-o diagramă boxplot (Figura 3.2), care include valorile minime și maxime ale intervalului, cotele superioare și inferioare, precum și mediana, pentru a rezuma distribuția setului de date înregistrat. Lungimea minimă a semințelor a fost de 3,2 mm în proveniența Botoșani, iar lungimea maximă a fost de 6,4 mm în Arad. Lățimea minimă a semințelor a fost înregistrată, de asemenea, în Botoșani (1,9 mm), dar valoarea cea mai mare a fost în Vâlcea (3,9 mm). Grosimea semințelor a variat între 1,2 mm (Botoșani) și 2,2 mm (Galați), în timp ce greutatea semințelor a fost între 0,051 g (Bihor) și 0,061 g (Iași) (Figura 3.2). Semințele din proveniența Bihor au avut o variabilitate relativ scăzută pentru toate trăsăturile semințelor. Media datelor empirice a fost aproape de mediană în boxplot-ul pentru lungimea și grosimea semințelor pentru Vâlcea și Galați. Astfel, proveniențele Arad și Vâlcea ies în evidență datorită caracteristicilor superioare ale semințelor.

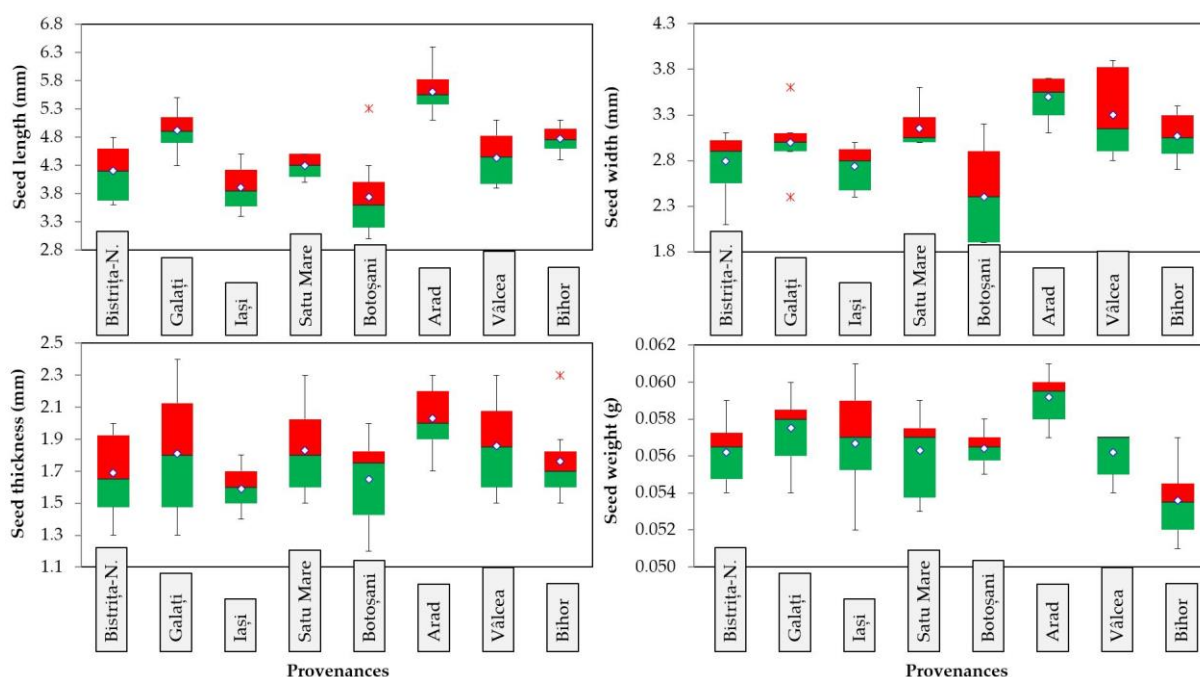


Figura 3.2 Caracteristicile principale ale semințelor de salcâm

Principalele trăsături ale semințelor, pe baza proveniențelor de *R. pseudoacacia*, sunt ilustrate folosind valorile medii (Figura 3.3). Din nou, proveniența Arad merită menționată, unde toate trăsăturile analizate au fost înregistrate cu valori medii superioare și semnificative comparativ cu celelalte proveniențe. În plus, caracteristicile minime ale semințelor au fost înregistrate diferit în proveniențele investigate, cu excepția Botoșani, care a înregistrat valorile minime pentru lungime (3,7 mm) și lățime (2,4 mm). Valorile medii, arată tendința datelor

pentru fiecare proveniență și sunt utile, deși excepțiile au fost destul de departe, mai ales pentru greutatea semințelor de salcâm investigate (0,054 g (Bihor) și 0,059 g (Arad)). Vor fi investigate ulterior cum se corelează aceste date cu germinarea și creșterea răsadurilor.

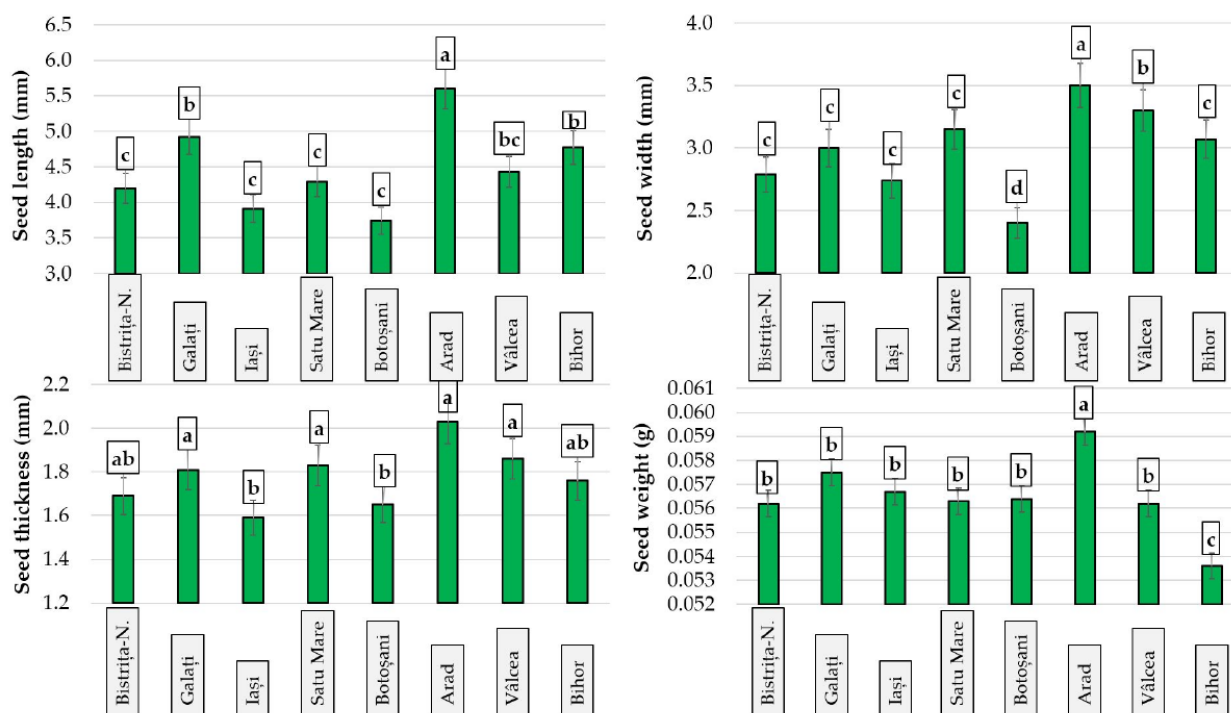


Figura 3.3 Caracteristicile principale ale semințelor (ca medie și SEM), bazate pe proveniențele de salcâm

Germinarea semințelor de *R. pseudoacacia*

Evoluția germinării semințelor de *R. pseudoacacia* a fost analizată pentru proveniențele studiate. Pentru toate tratamentele aplicate pentru stimularea germinării, au fost furnizate ecuații relativ ascendente și liniile de regresie corespunzătoare (Figura 3.4). Procentul de germinare a semințelor (%) pe durata celor 15 zile de investigare, în funcție de tratamentul de stimulare a germinării, pentru ansamblul experienței reprezentat de cele opt proveniențe, a avut o evoluție similară. Pe lângă linia de regresie și ecuația de regresie, sunt prezentate coeficientul de determinare (R^2) și coeficientul de corelație Pearson (r) pentru fiecare tratament, iar datele au fost comparabile. Tratamentul de scarificare a fost cel care a prezentat cele mai bune rezultate de germinare pentru studiul de față, urmat de tratamentul termic la cea mai mare temperatură (100 °C) (GP = 41,7%, respectiv 33,9%). Așa cum era de așteptat, semințele netratate (martor) au înregistrat cele mai scăzute valori de germinare, cu date semnificativ inferioare comparativ cu toate celelalte tratamente.

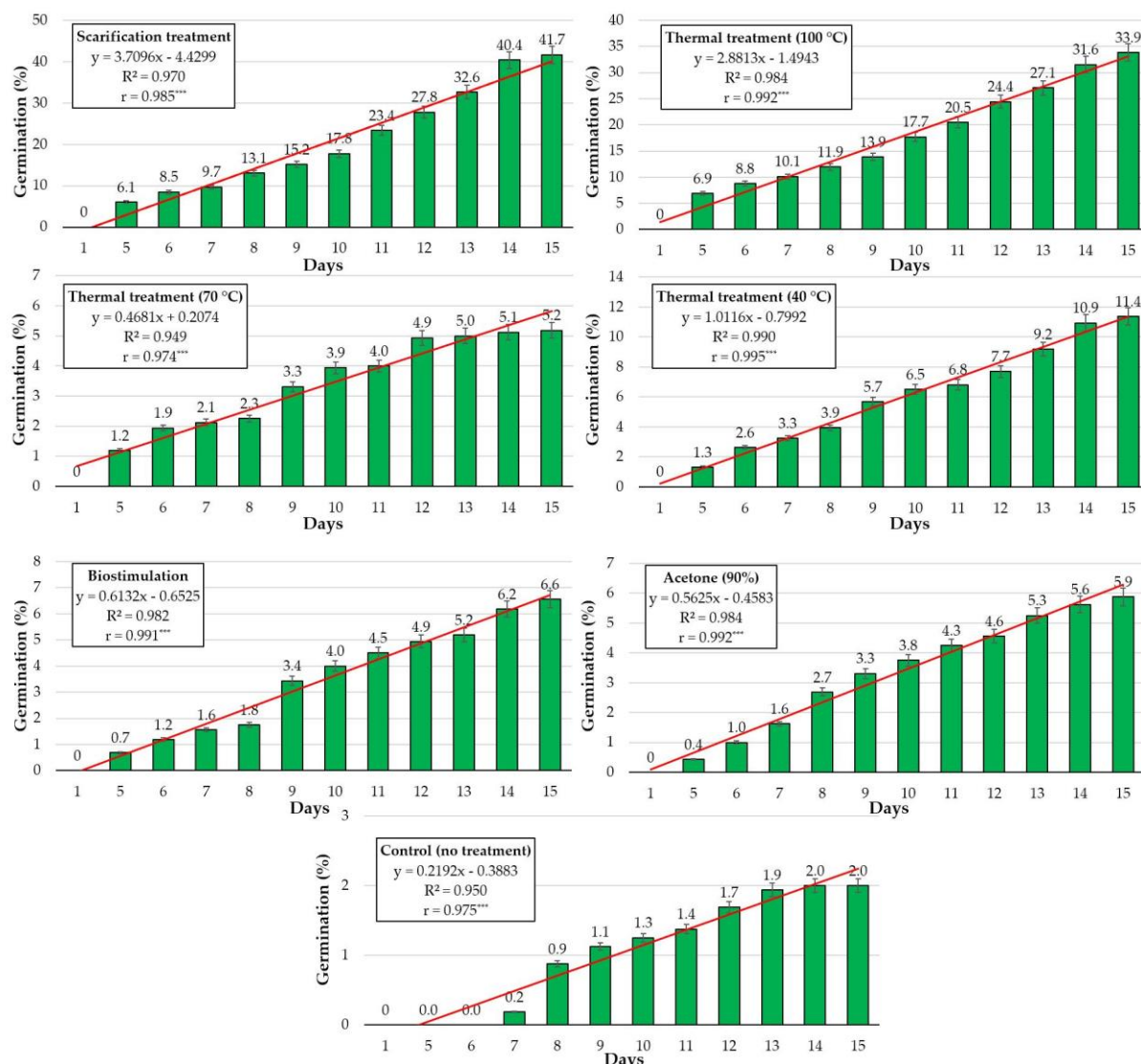


Figura 3.4 Progresul germinării semințelor (%) în funcție de zile, în raport cu tratamentul de stimulare a germinării, ilustrat prin linia de regresie și ecuația de regresie, coeficientul de determinare (R^2) și coeficientul de corelație Pearson (r)

Linia de regresie și ecuațiile între germinarea semințelor de salcâm și trăsăturile principale măsurate pentru semințe, ca medii ale tuturor proveniențelor. Figura 3.5 arată cum variabila independentă, fie lungimea, lățimea, grosimea sau greutatea semințelor, a influențat germinarea „dependentă” pentru $R^2 = 0.337$. Pe scurt, regresia arată cât de mult se poate aștepta să se schimbe germinarea pe măsură ce trăsăturile semințelor variază. Linia de regresie a fost ascendentă, cu excepția cazului grosimii semințelor și germinării, unde linia de regresie a fost notată ca fiind descendentă. Datele experimentale arată că corelațiile stabilite între trăsăturile semințelor și germinare nu au fost semnificative.

Utilizarea analizei datelor de germinare pe baza unor indici specifici este prezentată în Tabelul 3.1. Procentul de germinare a variat considerabil, cu valori începând de la 2% (proveniența Bihor, cu tratament termic la 70°C) până la 78,5% pentru semințele din proveniența

Iași, după scarificare. Per total, GP a avut valori mai mari pentru tratamentul de scarificare, urmat de tratamentul termic la temperatura cea mai înaltă de 100°C, în timp ce pentru control a fost între 1,0% și 3,5%. S-a observat că unele proveniențe au avut valori distincte în cadrul aceluiasi tratament, sugerând că originile semințelor pot avea un impact semnificativ asupra germinării (de exemplu, datele de scarificare au dus la un GP = 9% pentru proveniența Bihor și au avut cea mai mare valoare de 78,5%, urmată de 68,5% pentru proveniențele Iași și Galați). GP și GI au prezentat cele mai mari valori pentru proveniența Iași, cu scarificare. Indicele de vigoare a plantulelor (SVI), care a luat în considerare lungimea plantulelor și procentul de germinare, a variat între 0,3 și 4,71 la tratamentul de scarificare.

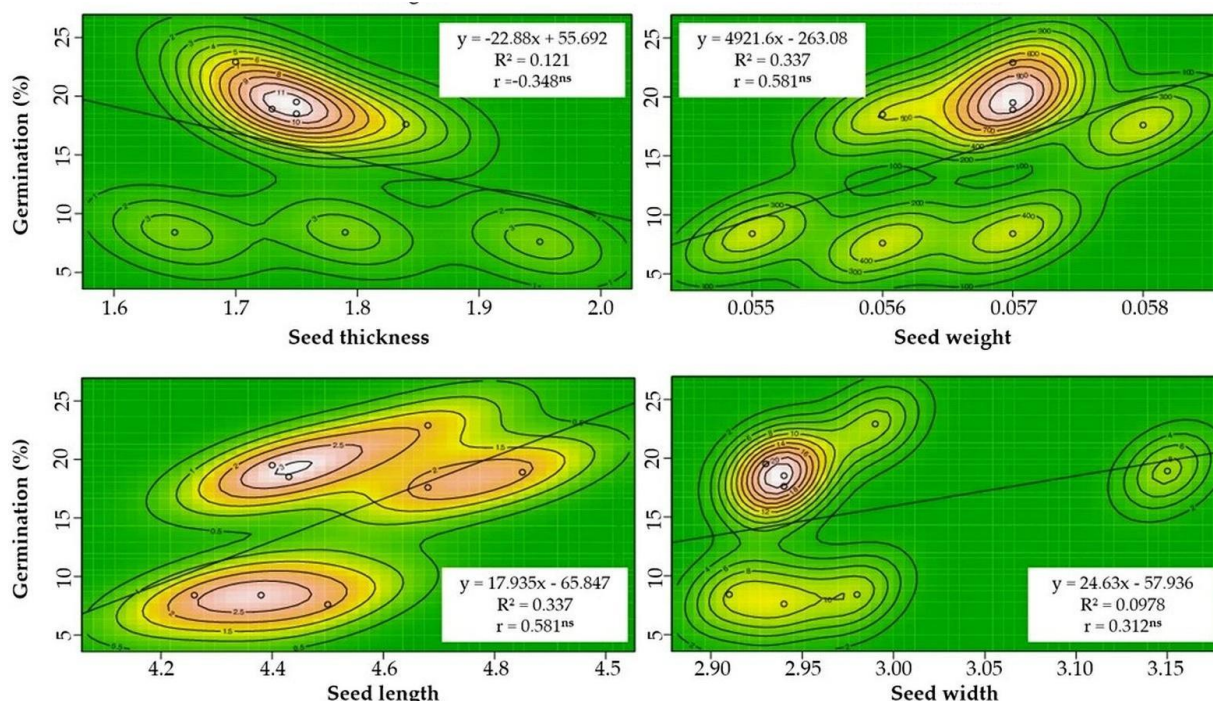


Figura 3.5 Linia și ecuația de regresie între germinare și caracteristicile principale ale semințelor, coeficientul de determinare (R^2) și coeficientul de corelație Pearson (r) sunt prezentate pentru întregul experiment (ca medii ale tuturor proveniențelor)

S-a observat surprinzător că viteza de germinare (SE) a avut valori mari pentru control, în timp ce aceasta a variat de la 2,9 (proveniența Satu-Mare, tratament de scarificare) până la 75,0 (proveniența Bihor, tratament termic la 70°C) (Tabelul 3.1). Coeficientul de rată al germinării (CRG) și indicele de vigoare a plantulelor (SVI) nu au avut o tendință similară cu creșterea temperaturii pentru tratamentele termice în cadrul tuturor proveniențelor analizate de *R. pseudoacacia*; de exemplu, pentru proveniența Botoșani, CRG = 12,8 cu tratamentul termic la 100°C, 11,5 la 70°C și 15,4 la 40°C, iar pentru proveniența Vâlcea, CRG = 14,1 cu tratamentul termic la 70°C, 9,6 la 100°C, 9,8 la 40°C (Tabelul 3.1). Aceste variații pot implica faptul că metoda aleasă pentru stimularea germinării trebuie gestionată strict și protocolul optim trebuie adaptat.

Tabelul 3.1

Principalii indici de germinare în funcție de proveniență și de tratamentele folosite

Variante	Proveniența	Indicii de germinare				
Controlul		GP	GI	SE	CRG	SVI
1	Bistrita-N.	1.5	0.3	33.3	10.3	0.05
2	Galati	1.0	0.2	50.0	11.8	0.03
3	Iasi	2.0	0.5	75.0	10.8	0.08
4	Satu-Mare	2.5	0.4	20.0	8.2	0.08
5	Botosani	3.0	0.7	66.7	10.5	0.11
6	Arad	2.5	0.5	60.0	10.8	0.08
7	Vâlcea	3.5	0.7	28.6	10.1	0.10
8	Bihor	1.5	0.2	33.3	8.1	0.06
Scarificarea						
1	Bistrita-N.	55.0	14.5	32.7	11.2	3.03
2	Galati	68.5	12.6	4.4	8.6	1.40
3	Iasi	78.5	22.1	25.5	12.6	4.71
4	Satu-Mare	51.0	8.9	2.9	8.3	2.55
5	Botosani	10.5	2.5	14.3	10.7	0.74
6	Arad	11.0	2.2	9.1	9.0	0.61
7	Vâlcea	50.0	8.7	4.0	8.2	1.50
8	Bihor	9.0	2.1	16.7	10.1	0.30
Tratamentul termic (100 °C)						
1	Bistrita-N.	60.0	14.6	23.3	10.3	3.0
2	Galati	13.0	2.8	15.4	9.5	0.52
3	Iasi	56.0	12.6	10.7	10.2	3.1
4	Satu-Mare	63.5	15.1	26.0	9.9	3.2
5	Botosani	10.2	2.9	45.3	12.8	0.55
6	Arad	10.0	3.0	45.0	13.0	0.52
7	Vâlcea	41.5	9.2	18.1	9.6	1.33
8	Bihor	17.0	3.4	8.8	9.1	0.51
Tratamentul termic (70 °C)						
1	Bistrita-N.	5.0	1.3	20.0	11.9	0.23
2	Galati	6.0	1.5	8.3	11.2	0.18
3	Iasi	6.0	1.6	33.3	11.8	0.33
4	Satu-Mare	6.3	1.5	33.5	11.9	0.25
5	Botosani	6.1	1.6	8.4	11.5	0.19
6	Arad	6.2	1.7	7.9	11.4	0.30
7	Vâlcea	4.5	1.5	66.7	14.1	0.14
8	Bihor	2.0	0.4	75.0	9.5	0.06
Tratamentul termic (40 °C)						
1	Bistrita-N.	2.5	0.6	40.0	11.1	0.11
2	Galati	33.5	6.2	6.0	8.6	1.07
3	Iasi	7.5	1.7	13.3	9.7	0.34
4	Satu-Mare	5.0	1.3	20.0	11.6	0.25
5	Botosani	8.1	2.8	25.2	15.4	0.32
6	Arad	8.0	2.6	25.0	15.2	0.40
7	Vâlcea	8.5	1.8	11.8	9.8	0.26
8	Bihor	18.0	4.1	8.3	10.3	0.72
Biostimulator						
1	Bistrita-N.	4.5	1.1	33.3	10.7	0.14
2	Galati	5.1	1.4	10.1	12.5	0.15
3	Iasi	5.0	1.1	10.0	10.1	0.20
4	Satu-Mare	4.5	1.0	11.1	10.1	0.14
5	Botosani	11.7	2.1	8.4	9.2	0.31
6	Arad	11.5	2.3	8.7	9.5	0.35
7	Vâlcea	7.5	2.1	40.0	11.9	0.23
8	Bihor	3.0	0.5	16.7	8.0	0.12
Acetonă (90%)						
1	Bistrita-N.	3.5	0.7	14.3	9.3	0.11
2	Galati	2.5	0.8	40.0	14.3	0.10
3	Iasi	5.0	1.1	10.0	10.1	0.15
4	Satu-Mare	5.5	1.5	36.4	11.1	0.22
5	Botosani	10.2	2.5	9.8	10.2	0.35
6	Arad	10.0	2.3	10.0	10.6	0.32
7	Vâlcea	7.5	1.7	6.7	10.6	0.23
8	Bihor	3.0	0.6	16.7	8.8	0.16

GP-procentul de germinare, GI-indicele de germinare, SE-viteza de germinare, CRG-coeficientul vitezei de germinare, SVI-indicele de vigoare a plantulelor

Media pentru întregul experiment a fost calculată pentru fiecare tratament pentru a testa dacă se poate decide asupra celei mai adecvate metode pentru stimularea germinării (Tabelul 3.2). Scarificarea ar putea stimula semnificativ germinarea semințelor, iar GP a fost cea mai mare pentru acest tratament, urmat de tratamentul termic la 100°C, în timp ce tratamentele termice la 70°C, biostimularea și tratamentele cu acetonă nu au prezentat diferențe semnificative între ele, în ceea ce privește GP. SE a fost semnificativ mai mare pentru tratamentul termic la 70°C, în timp ce CRG și SVI au prezentat cele mai mari valori pentru metoda de scarificare, dar cu grade diferite de semnificație.

Tabelul 3.2

Media principalilor indici de germinare pentru cele opt proveniențe de salcâm în funcție de tratamentele folosite

Tratamentul	Indicii de germinare				
	GP	GI	SE	CRG	SVI
Controlul	2.2 ^e	0.4 ^e	45.9 ^a	10.1 ^a	0.1 ^e
Scarificarea	41.7 ^a	9.2 ^a	13.7 ^e	9.8 ^a	1.9 ^a
Tratamentul termic (100 °C)	33.9 ^b	8.0 ^b	24.1 ^c	10.6 ^a	1.6 ^b
Tratamentul termic (70 °C)	5.3 ^d	1.4 ^d	31.6 ^b	11.7 ^b	0.2 ^d
Tratamentul termic (40 °C)	11.4 ^c	2.6 ^c	18.7 ^d	11.5 ^b	0.4 ^c
Biostimulatori	6.6 ^d	1.5 ^d	17.3 ^d	10.3 ^a	0.2 ^d
Acetonă (90%)	5.9 ^d	1.4 ^d	18.0 ^d	10.6 ^a	0.2 ^d

Mediile din coloane pentru fiecare indice, urmate de aceeași literă, nu sunt semnificativ diferite la nivelul $p < 0,05$, conform testului de comparații multiple Duncan (DMRT)

Dezvoltarea plantulelor și rata de creștere în funcție de proveniențe

Pentru a corela originea semințelor de *R. pseudoacacia*, proveniențele, tratamentele de germinare studiate și creșterea în primele etape de dezvoltare a plantulelor, răsadurile obținute au fost investigate.

Procentul de germinare al semințelor la sfârșitul celor 15 zile de analiză a arătat că tratamentul de scarificare a oferit cele mai bune rezultate dintre toate tratamentele (41,7%), cu diferențe semnificative superioare. Scarificarea a fost urmată de tratamentul termic la 100°C, deși diferențele dintre cele două tratamente au fost semnificative (Figura 3.6). Aceleași tratamente au fost observate pentru a promova cele mai mari valori și pentru lungimea răsadurilor, dar de data aceasta diferențele nu au fost semnificative și, mai mult, au fost apropiate pentru toate rezultatele celorlalte tratamente termice. Ulterior, tratamentele cu acetonă și biostimulator nu au înregistrat diferențe semnificative statistic față de semințele netratate (control) pentru măsurătorile răsadurilor. Este interesant să înțelegem mai bine rezultatele

diferite obținute pentru tratamentul termic la 70°C, unde germinarea a fost statistic inferioară, dar răsurile au înregistrat o valoare superioară.

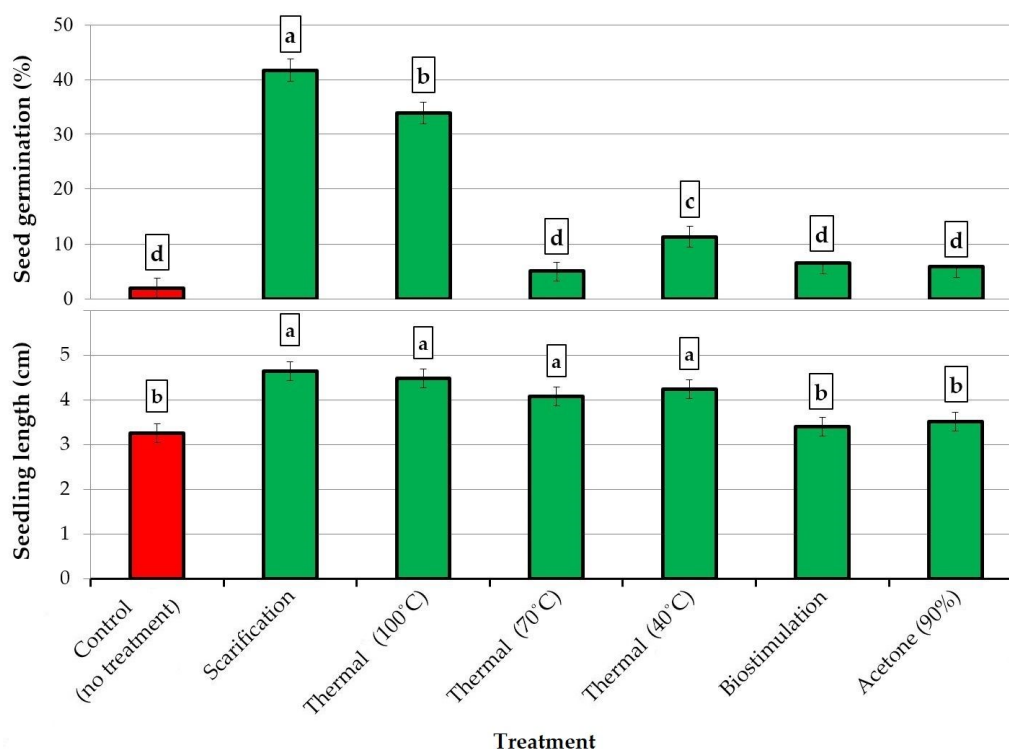


Figura 3.6 Procentul de germinare (medie $\pm$ SEM) și lungimea puieților

Pentru a avea o reprezentare mai precisă a creșterii puieților de *R. pseudoacacia* și a posibilei influențe a originilor semințelor, referindu-se la diferitele proveniențe studiate și, în al doilea rând, la tratamentele de germinare, puieții au fost măsurați consecutiv în primul, al doilea și al patrulea an după plantare. Datele sunt interpretate în Tabelele 3.3 și 3.4. Principalele trăsături de creștere sunt exprimate ca medii pe baza provenienței, înălțimii puieților și diametrului. La început, în primul an, puieții proveniți din semințele obținute din proveniența Galați au avut înălțimea cea mai mare, de 70,4 cm, care a fost semnificativ superioară comparativ cu celelalte proveniențe; mai mult decât atât, CV% a avut cea mai mică valoare (20,2%) pentru puieții din Galați, iar astfel trăsătura a fost stabilă în rândul plantelor investigate (Tabelul 3.3). De asemenea, pentru diametru, puieții din Galați au fost superiori, urmat de cei din Vâlcea și Arad. În plus, în al doilea an de viață, puieții din Galați au rămas cei mai înalți, dar au fost mai apropiați de cei din Iași, Vâlcea, Botoșani și Arad, între care diferențele nu au fost semnificative. Cele mai mari valori pentru diametru au fost observate la puieții din Vâlcea și Galați. Merită menționat că în al doilea an al studiului, CV% a fost mai mic, variind între 17,2% pentru înălțime și 34% pentru diametru (Tabelul 3.3); astfel, variabilitatea trăsăturilor a fost mică sau medie, iar abaterea standard a fost relativ mică comparativ cu media pe proveniență.

Tabelul 3.3

Înălțimea și diametrul puieților la sfârșitul primului și al doilea an de viață, în funcție de originea geografică a celor opt proveniențe de salcâm

No.	Provenance	Seedling Height (cm)		Seedling Diameter (mm)		Seedling Height (cm)		Seedling Diameter (mm)	
		First Year		First Year		Second Year		Second Year	
		Mean * $\pm$ SEM	CV%	Mean $\pm$ SEM	CV%	Mean $\pm$ SEM	CV%	Mean $\pm$ SEM	CV%
1	Bistrița-N.	24.6 ^c $\pm$ 0.9	39.4	1.4 ^c $\pm$ 0.1	42.0	46.2 ^c $\pm$ 1.0	21.2	5.7 ^c $\pm$ 0.1	20.7
2	Galăț i	70.4 ^a $\pm$ 1.4	20.2	5.0 ^a $\pm$ 0.2	44.5	87.6 ^a $\pm$ 1.8	20.1	10.8 ^a $\pm$ 0.4	34.0
3	Iasi	53.7 ^b $\pm$ 2.1	39.7	3.6 ^{ab} $\pm$ 0.2	52.2	82.3 ^a $\pm$ 1.4	17.2	7.8 ^b $\pm$ 0.2	23.1
4	Satu Mare	29.6 ^c $\pm$ 1.5	51.3	2.3 ^{bc} $\pm$ 0.1	43.2	57.4 ^b $\pm$ 1.3	22.7	7.4 ^b $\pm$ 0.2	28.2
5	Botoșani	46.0 ^b $\pm$ 1.8	39.6	3.2 ^b $\pm$ 0.1	42.9	77.4 ^a $\pm$ 1.3	17.2	8.2 ^b $\pm$ 0.2	20.8
6	Arad	45.2 ^b $\pm$ 1.6	34.9	2.8 ^b $\pm$ 0.1	47.1	76.9 ^a $\pm$ 1.3	16.8	7.5 ^b $\pm$ 0.2	23.3
7	Vâlcea	50.7 ^b $\pm$ 1.7	34.2	4.4 ^a $\pm$ 0.2	45.8	77.4 ^a $\pm$ 1.4	18.4	10.9 ^a $\pm$ 0.3	26.2
8	Bihor	41.8 ^b $\pm$ 1.9	45.2	1.8 ^c $\pm$ 0.1	59.7	62.2 ^b $\pm$ 1.3	21.7	6.7 ^{bc} $\pm$ 0.2	25.8

Mediile din coloane pentru proveniențe, urmate de aceeași literă, nu sunt semnificativ diferite la nivelul $p < 0,05$, conform testului de comparații multiple Duncan (DMRT).

Anul patru al cercetării a favorizat calcularea unei trăsături suplimentare care a fost influentă pentru dezvoltarea puieților: numărul de ramificații (Tabelul 3.4). Înălțimea puieților de salcâm a variat între 65 cm (Bistrița-Năsăud) și 278 cm (Bihor). Puieții proveniți din Galați au înregistrat valori semnificativ mai mari pentru înălțime (a doua medie), diametru (cea mai mare medie, urmată de puieții din Botoșani, fără diferențe semnificative) și numărul de ramificații (cea mai mare medie, urmată de puieții din Botoșani și Vâlcea). Creșterea puieților din Galați a fost constantă, prezentând o variabilitate redusă (CV% sub 20) în toate analizele efectuate.

Tabelul 3.4

Înălțimea, diametrul și numărul de ramificații ale puieților de salcâm la sfârșitul celui de-al patrulea an în funcție de originea geografică a celor opt proveniențe

No.	Provenance	Seedling Height (cm)		Seedling Diameter (mm)		Number of Ramifications per Plant	
		Mean * $\pm$ SEM	CV%	Mean $\pm$ SEM	CV%	Mean $\pm$ SEM	CV%
1	Bistrița-N.	65.0 ^d $\pm$ 1.7	26.2	6.8 ^d $\pm$ 0.2	24.8	6.1 ^b $\pm$ 0.1	19.8
2	Galăț i	274.0 ^a $\pm$ 4.8	17.5	31.6 ^a $\pm$ 0.5	16.3	10.1 ^a $\pm$ 0.2	19.0
3	Iasi	203.5 ^b $\pm$ 6.6	32.6	15.7 ^c $\pm$ 0.6	41.0	7.4 ^b $\pm$ 0.2	21.7
4	Satu Mare	213.5 ^b $\pm$ 3.7	17.5	14.8 ^c $\pm$ 0.6	38.8	6.8 ^b $\pm$ 0.1	18.8
5	Botoșani	258.0 ^a $\pm$ 5.4	20.9	29.9 ^a $\pm$ 0.9	29.6	9.7 ^a $\pm$ 0.2	20.5
6	Arad	116.5 ^c $\pm$ 3.4	29.3	13.0 ^c $\pm$ 0.4	30.3	7.2 ^b $\pm$ 0.1	19.9
7	Vâlcea	267.0 ^a $\pm$ 5.1	18.9	23.3 ^b $\pm$ 0.5	23.2	9.4 ^a $\pm$ 0.2	18.4
8	Bihor	278.0 ^a $\pm$ 6.6	23.7	25.3 ^b $\pm$ 0.6	25.1	6.3 ^b $\pm$ 0.1	13.7

Mediile din coloane pentru proveniențe, urmate de aceeași literă, nu sunt semnificativ diferite la nivelul $p < 0,05$, conform testului de comparații multiple Duncan (DMRT).

Influența generală a proveniențelor

Este impresionant să înțelegem impactul pe care originea din diferite proveniențe și stimularea germinăției îl pot avea asupra dezvoltării puieților, deoarece salcâmul este un arbore

de interes silvicultural, iar materialul reproductiv de înaltă calitate este esențial pentru gestionarea corespunzătoare.

Relația dintre originea semințelor și parametrii, germinația și trăsăturile puieților este evidențiată prin corelația Pearson (Figura 3.7). Corelațiile pozitive, care arată o dependență direcțională, sunt afișate cu albastru, iar corelațiile negative cu roșu. Intensitatea culorii și dimensiunea cercului sunt proporționale cu coeficientul de corelație. Căsuțele de fundal gri din unele celule ilustrează valorile statistic semnificative ($p < 0.05$).

Derivând din asocierea între variabile, trăsăturile investigate de grosime și lățime ale semințelor au fost corelate pozitiv și semnificativ statistic, dar nu cu datele de germinație. Mai mult, lungimea și diametrul puieților, în special în al doilea an de viață, au fost, de asemenea, statistic corelate pozitiv.

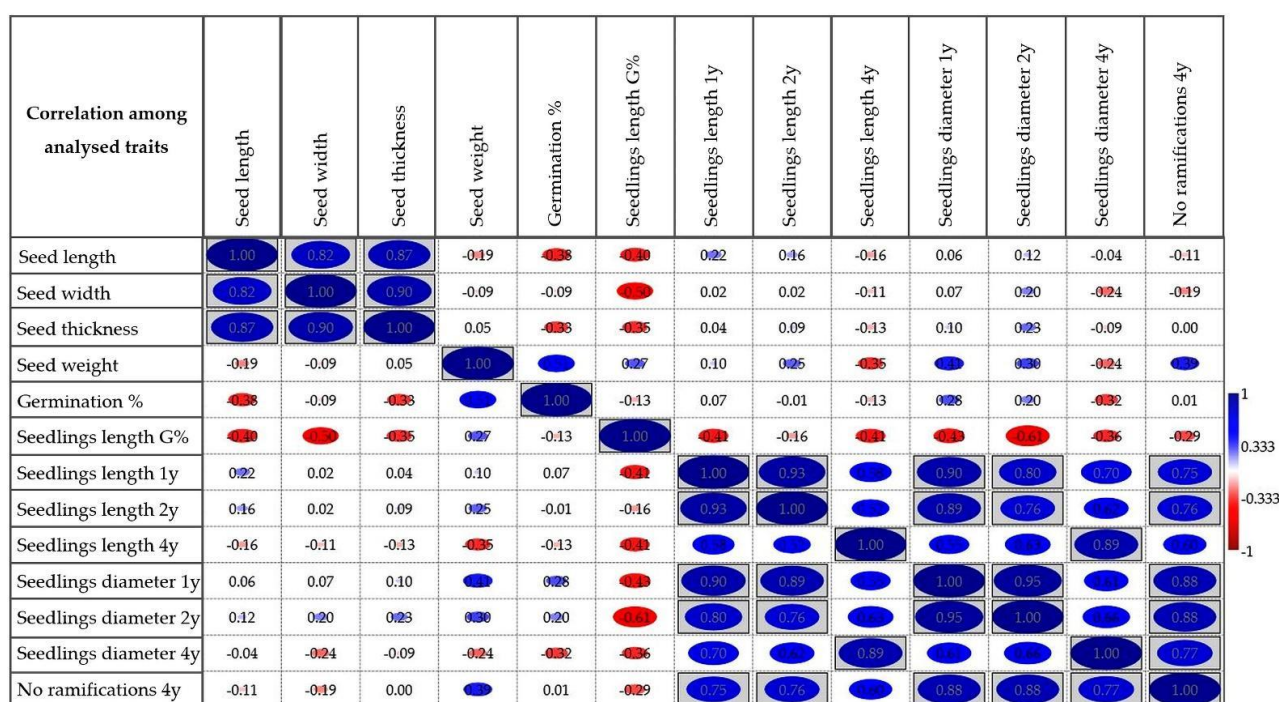


Figura 3.7 Corelațiile Pearson (valoarea r) între caracteristicile analizate ale celor opt proveniențe de salcâm

Intensitatea legăturii pentru caracteristicile analizate a fost evidențiată prin date statistic asigurate pozitiv între lungimea și diametrul puieților în primii doi ani de creștere și numărul de ramificații în al patrulea an. Valorile apropiate de $r = 1$, indicând o relație mai puternică între variabile, au fost observate între creșterea vegetativă, lungime și diametru. Coeficientul de corelație pozitiv indică faptul că o creștere a unei variabile ar corespunde cu o creștere a celei asociate, implicând astfel o relație directă între cele două variabile (de exemplu, așa cum s-a observat pentru lungimea și diametrul puieților). În schimb, o corelație negativă indică o dependență inversă, adică o variabilă crește, iar cealaltă scade (Taylor, 1990).

Analiza corespondențelor canonice (CCA) este o metodă multivariată utilă pentru elucidarea și reprezentarea relațiilor dintre ansamblurile biologice ale speciilor și mediul lor (Ter Braak și Verdonschot, 1995). În acest studiu, trăsăturile investigate pentru semințe au inclus tratamentele de germinație, caracteristicile răsadurilor și proveniența originii. Analiza canonică a corespondențelor (CCA), ilustrată în Figura 3.8, a oferit o reprezentare pentru cele opt proveniențe de *R. pseudoacacia* și cele 13 caracteristici analizate ale semințelor și răsadurilor obținute.

Prin identificarea unor noi variabile ca funcții liniare ale celor din setul de date original, s-a constatat că primul ax al CCA, Ax 1, a explicat 73,65% din variația totală observată, în timp ce a doua componentă (Ax 2) a explicat 20,51%. Proveniența cea mai îndepărtată a fost Bistrița-Năsăud, care a fost în corelație negativă cu Bihor.

Datele au fost distribuite în mod obișnuit între trăsăturile și proveniențele investigate (Figurile 3.8 și 3.9). În cazul caracteristicilor analizate, s-a observat un grup distinct și evident pentru lungimea răsadurilor în al patrulea an de investigare. Un alt grup a fost format din lungimea răsadurilor în primul și al doilea an de viață, separat de un al treilea grup, care includea multe alte subgrupuri distincte.

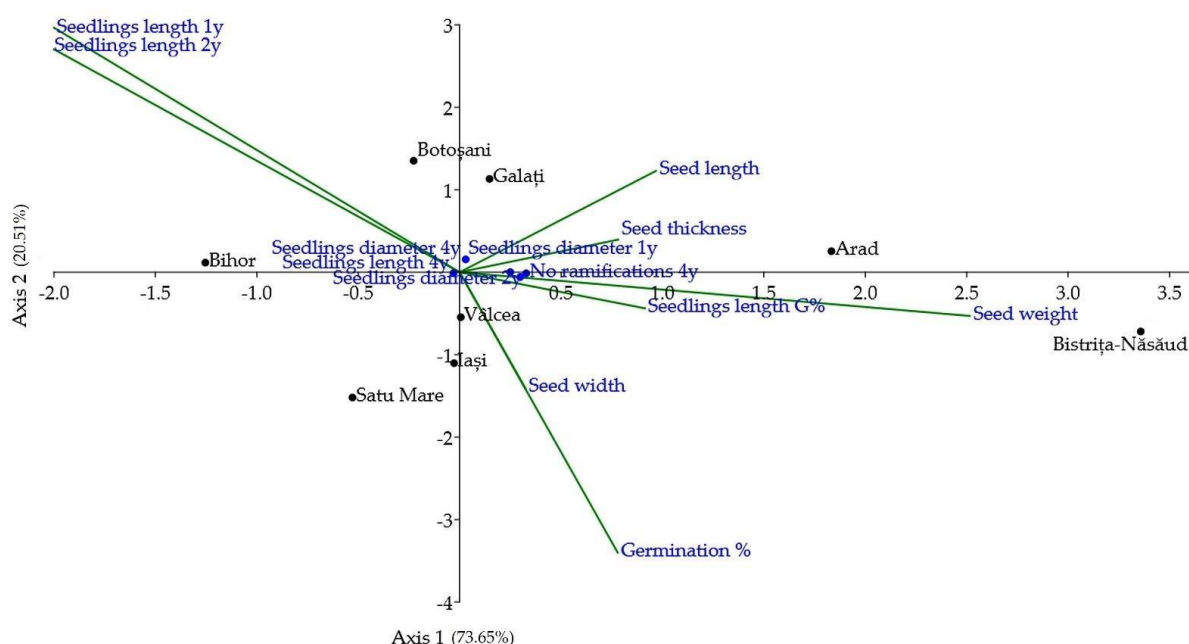


Figura 3.8 Analiza corespondențelor canonice (CCA) pentru cele opt proveniențe de salcâm și cele 13 caracteristici analizate ale semințelor și puieților

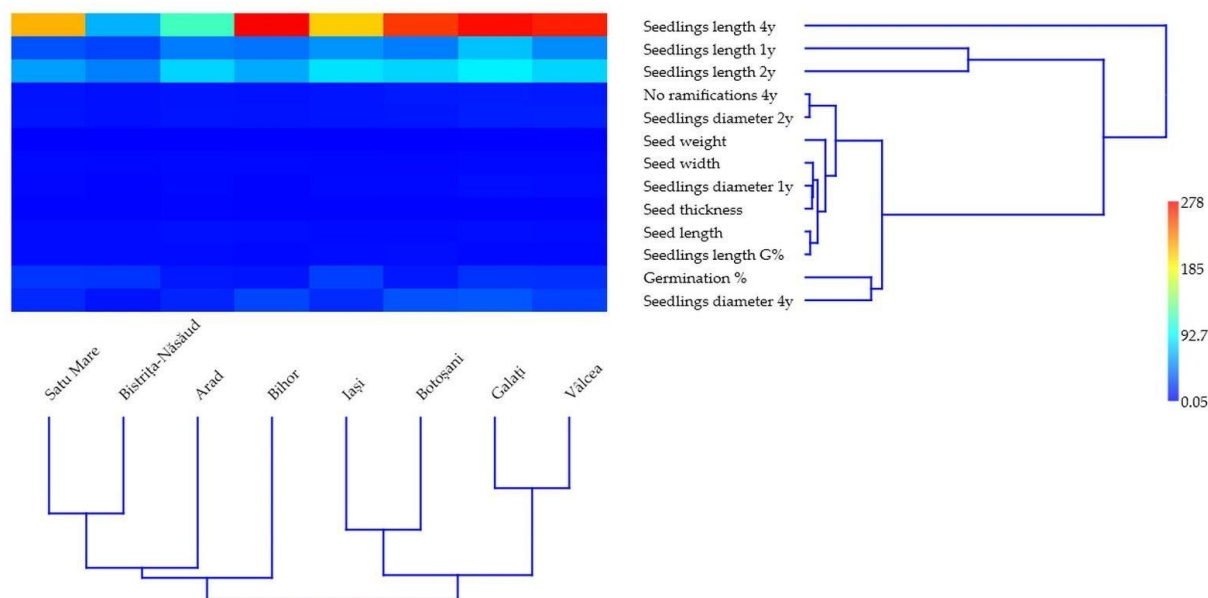


Figura 3.9 Clusterul ierarhic - metoda grupurilor pereche UPGMA (metoda grupurilor pereche neponderate cu media aritmetică) - indicele de similitudine (Gower) pentru cele opt proveniențe de salcâm și cele 13 caracteristici analizate ale semințelor și puieților

Mai mult, dendrograma obținută (Figura 3.9) arată grupurile proveniențelor conform clasificării observațiilor efectuate și nivelurilor de similitudine dintre toate caracteristicile investigate. Diagrama arborelui confirmă rezultatele dispersate, atât prin modelul de formare a grupurilor, cât și prin nivelurile de similitudine sau distanță dintre grupurile care au conținut proveniențele analizate de *R. pseudoacacia*. Au fost identificate două grupuri mari, fiecare cu mai multe subgrupuri. S-a observat că Iași și Botoșani au fost grupate împreună într-un subgrup, probabil datorită datelor privind germinația, în timp ce Bihor s-a remarcat ca un subgrup separat într-o parte a arborelui, deoarece puieții proveniți din semințele sale au înregistrat rezultate semnificativ superioare.

4. Discuții

Caracteristicile morfologice observate pentru semințele de salcâm au indicat că originea acestora a fost relevantă pentru investigarea de față, iar datele au prezentat o variabilitate considerabilă (Roman și colab., 2022). Studiul actual a evidențiat trăsături ale semințelor, precum grosimea, lungimea, lățimea și greutatea, reprezentate sub forma unui diagramă boxplot (Figura 3.2), care cuprinde valorile minime și maxime, quartilele superioare și inferioare, precum și mediana, pentru a rezuma distribuția setului de date înregistrate. Este important de menționat că semințele provenite din județul Bihor au prezentat o variabilitate relativ scăzută pentru toate trăsăturile analizate. Pentru proveniențele din județele Vâlcea și Galați, media datelor experimentale a fost apropiată de mediana din diagrama boxplot pentru lungimea și grosimea

semințelor. Diferențele dintre proveniențele analizate au fost statistic semnificative, ceea ce indică faptul că germinația a fost cu siguranță influențată de parametrii ecologici din zona de proveniență, împreună cu tratamentul aplicat.

Conform literaturii de specialitate, semințele mai mari pot avea o rată de germinație mai ridicată, deoarece conțin o rezervă mai mare de resurse nutriționale și energetice care susțin germinarea (Kheloufi și colab., 2018) și, ulterior, dezvoltarea răsadurilor mai sănătoase (Pedrol și colab., 2017). Semințele de salcâm sunt caracterizate ca fiind dure și impermeabile la apă. Astfel, pentru această specie, dormanța naturală a semințelor este exclusiv fizică (duritatea seminței) (Giuliani și colab., 2015). Această caracteristică este comună mai multor familii de plante, dintre care una dintre cele mai mari este Fabaceae (Hidayati și colab., 2001). Pentru a sparge dormanța fizică a semințelor, sunt necesare activitatea microorganismelor, temperaturi ridicate (încendii) sau temperaturi scăzute (îngheț) (Yuan și colab., 2022). Când tegumentul seminței este deteriorat, apa pătrunde și inițiază procesul de germinare. Pentru genul *Robinia*, proporția semințelor capabile de germinare fără tratament este de obicei scăzută, după cum o demonstrează nivelul mediu de 10,8% obținut în trecut (Jastrzebowski și colab., 2017). Rezultatele obținute în acest studiu au arătat, de asemenea, o germinație foarte scăzută (2,18%) în absența oricărui tratament. Rezultate similare au fost raportate de alți cercetători (Mondoni și colab., 2013).

În scopuri economice, tratamentul de scarificare este aplicat semințelor înainte de însămânțare pentru a crește rata de germinație. Metodele obișnuite includ tratarea semințelor în băi de apă la temperaturi cuprinse între 60 și 98 °C (Tylkowski și Grupa, 2010), cu acid sulfuric (Olson și colab., 2008) sau cu metode care deteriorează fizic tegumentul seminței (Mondoni și colab., 2013). De asemenea, există diverse tratamente chimice și mecanice utilizate pentru a stimula germinarea. Capacitatea de germinare a semințelor de salcâm este facilitată prin imersarea în apă clocotită, tratamente mecanice (scarificare) sau tratamente chimice (de exemplu, utilizarea acidului sulfuric diluat) înainte de însămânțare (Cruz și colab., 2021).

Evoluția germinației semințelor (%) în timpul experimentului, în funcție de tratamentul de stimulare a germinației, pentru studiului reprezentat de cele opt proveniențe ale semințelor de *R. pseudoacacia*, a fost similară. Pe lângă linia de regresie și ecuația de regresie, au fost prezentate coeficientul de determinare (R^2) și coeficientul de corelație Pearson (r) pentru fiecare tratament. Tratamentul de scarificare a arătat cele mai bune rezultate de germinație.

Rezultate comparabile au fost obținute de alți autori (Masaka și Yamada, 2009) cu rate ridicate de germinație obținute prin imersarea semințelor în apă clocotită la temperaturi de 60–80 °C, cu un timp de înmuiere cuprins între 20 de minute și 72 de ore. În studiul actual, procentul de germinație (GP) a avut valori mai ridicate pentru tratamentul de scarificare, urmat de tratamentul

termic la cea mai înaltă temperatură de 100 °C și un timp de înmuiere de 10 minute. În practica silvică, poate fi suficient să se utilizeze o metodă chimică prin imersarea semințelor timp de 60 de minute în acid sulfuric concentrat, urmată de spălarea semințelor în apă rece și uscarea lor la o temperatură reglată [46]. O altă metodă de succes este scarificarea semințelor utilizând șmirghel manual pentru a zgâria tegumentul semințelor (Usberti și Martins, 2007).

Investigația privind germinația din acest studiu a confirmat, de asemenea, cea mai bună capacitate de germinație a semințelor de salcâm după tratamentul de scarificare, similar cu rezultatele raportate recent în literatura de specialitate, cu rate de germinație (GR) de până la și peste 95% (Bennis și colab., 2022). Totuși, acești autori au constatat că nu există diferențe semnificative în GR între tratamentele de scarificare, testele preliminare sugerând că scarificarea mecanică a oferit cele mai mari rate de germinație, așa cum a fost observat și la multe alte specii din familia Fabaceae (Hidayati și colab., 2001). În studiul nostru, datele obținute pentru germinație au fost semnificative din punct de vedere statistic, cu valori mai mari pentru GP (procentul de germinație), GI (indicele de germinație) și SVI (indicele de vigoare a puieților) (Tabelul 3.2) pentru tratamentul de scarificare, comparativ cu tratamentele termice, biostimularea sau soluția de acetonă.

CVG (coeficientul de variație al germinației) nu se concentrează pe procentul final de germinație, ci pune accent pe timpul necesar pentru a ajunge la acesta. Detaliile legate de timp (prima zi, ultima zi și intervalul de timp) nu sunt luate în considerare, deoarece timpul este mediat. Kader (2005), a arătat că loturile de semințe cu aceleași valori pentru FDG (prima zi de germinație), LDG (ultima zi de germinație) și TSG (intervalul total de germinație) pot avea valori diferite ale CVG. Acest lucru înseamnă că măsurătorile bazate pe timp, necorelate cu date suplimentare, nu reprezintă o reprezentare foarte utilă a activității generale de germinație a semințelor. Pornirea și finalizarea germinației în același timp nu sunt suficiente pentru a produce un CVG uniform și, prin urmare, pot induce în eroare.

GI pare să fie cel mai cuprinzător parametru de măsurare, combinând atât procentul de germinație, cât și viteza (durata, răspândirea și evenimentele extreme). Acesta evidențiază variația dintre loturile de semințe printr-o măsurătoare numerică ușor de comparat. Coeficientul ratei de germinație (CRG) și indicele de vigoare a răsadurilor (SVI) au scăzut semnificativ odată cu creșterea concentrațiilor de extracte în raport cu valorile martor, indiferent de timpul de tratament al semințelor și de tipul de extract (Mozdzen și colab., 2020).

Analiza datelor de germinație pe baza indicilor a arătat că procentul de germinație a variat considerabil, cu valori între 2% (proveniența Bihor, cu tratament termic la 70 °C și 78,5%) pentru semințele din proveniența Iași după scarificare. GP a avut valori mai mari pentru tratamentul de scarificare, urmat de tratamentul termic la cea mai ridicată temperatură de 100 °C,

În timp ce valorile s-au situat între 1,0% și 3,5% pentru lotul martor. S-a observat că unele proveniențe au avut valori distincte în cadrul aceluiasi tratament, sugerând că originea semințelor poate avea un impact semnificativ asupra germinației (de exemplu, datele pentru scarificare au rezultat în $GP = 9\%$ pentru proveniența Bihor și cea mai mare valoare de 78,5%, urmată de 68,5% pentru proveniențele Iași și Galați). GP și GI au avut cele mai ridicate valori pentru proveniența Iași cu tratamentul de scarificare.

Este interesant de înțeles mai profund diferențele de rezultate obținute pentru tratamentul termic la 70 °C, unde germinația a fost statistic inferioară, dar puieții au înregistrat valori superioare, similare cu cele obținute prin scarificare (Figura 3.5). O astfel de diferență poate fi datorată adaptabilității semințelor, care influențează dezvoltarea puieților, luând în considerare proveniențele din diverse condiții climatice și arborii de vârste diferite.

În ultimul an al investigației, înălțimea puieților provenind din județul Bistrița-Năsăud a fost statistic inferioară. Înălțimea redusă, comparativ cu celelalte proveniențe, poate fi datorată fie consangvinității între răsaduri, fie influențată de originea semințelor, care pot fi colectate de la arbori care nu au fost selectați corect sau care au fost genetic debilitați (Lucas-Borja și colab., 2017).

Analiza corespondenței canonice (CCA) este o metodă utilizată pentru aranjarea speciilor în funcție de variabilele de mediu. CCA construiește combinații liniare de variabile de mediu, pe baza cărora distribuțiile speciilor sunt maxim separate. Valorile proprii produse de CCA măsoară separarea (Ter Braak și Verdonschot, 1995), evidențiind distribuțiile speciilor în raport cu variabilele de mediu. Aplicațiile ecologice demonstrează că CCA poate fi utilizată atât pentru a detecta relațiile dintre specii și mediu, cât și pentru a investiga întrebări specifice despre răspunsul speciilor la variabilele de mediu bazate pe procese spațiale care creează autocorelație. În studiul nostru, analiza corespondenței canonice (CCA), ilustrată în Figura 3.8, oferă o prezentare pentru cele opt proveniențe de *R. pseudoacacia* și cele 13 caracteristici analizate ale semințelor și puieților obținute. În plus, dendrogramă (Figura 3.9) confirmă rezultatele dispersate, atât prin modelul prin care au fost formate clusterelor, cât și prin nivelurile de similaritate sau distanță ale acestora, care conțin proveniențele analizate de *R. pseudoacacia*.

Rezultatele prezente sugerează că tratamentele aplicate semințelor de *Robinia pseudoacacia* ar putea îmbunătăți capacitatea de germinare și caracteristicile răsadurilor, conducând astfel la obținerea unui material biologic reproductiv mai valoros pentru această specie. Stimularea germinației prin metode fizice, precum scarificarea, poate constitui o alternativă ecologică la utilizarea substanțelor chimice, oferind atât beneficii pentru mediu, cât și posibilitatea unei aplicări eficiente pe scară largă.

Testele de germinație efectuate în cadrul acestui studiu și analiza indicilor au evidențiat o variabilitate remarcabilă în răspunsurile germinației semințelor provenite din diferite proveniențe românești. Originea geografică a proveniențelor semințelor s-a dovedit a influența semnificativ dezvoltarea viitoarelor plante, în ceea ce privește rata de creștere în primele stadii de viață. Diferențele dintre proveniențe pentru anumite trăsături ale materialului reproductiv ar putea fi parțial atribuite furnizorilor de semințe din rezervațiile incluse în catalogul național, care nu asigură întotdeauna material biologic de calitate superioară.

În acest context, studii similare pot fi utilizate pentru a evalua și verifica calitatea materialului biologic furnizat. Corelațiile strânse dintre unele caracteristici ar putea fi utilizate ca indici de selecție indirectă și aplicate eficient în procesul de selecție a exemplarelor valoroase în pepiniere, pentru utilizare în reîmpăduriri sau alte scopuri. Proveniențele identificate cu material reproductiv de calitate ar putea fi recomandate pentru utilizare în noi programe de reîmpădurire cu salcâm sau în activități noi de ameliorare și selecție.

(B-ii) Planuri de evoluție și dezvoltare a carierei**1. EVOLUȚIA PROFESIONALĂ****Studii universitare și postuniversitare**

2003-2008: Studii de licență, specializarea ‘Silvicultură’. Calificarea/diploma obținută: diploma de inginer, titlul de inginer diplomat, USAMV Cluj-Napoca.

2008-2010: Studii de master, în domeniul ‘Horticultură’, programul de studiu ‘Inginerie genetică în ameliorarea plantelor’. Calificarea/diploma obținută: diplomă de master, USAMV Cluj-Napoca.

2008-2011: Studii de doctorat în domeniul ‘Horticultură’, specializarea ‘Genetica și ameliorarea plantelor’. Conducător științific: Prof. dr. Radu E. SESTRĂȘ. Calificarea/diploma obținută: diploma de doctor în ‘Horticultură’, USAMV Cluj-Napoca.

2013-2018: Studii de licență, specializarea ‘Drept’. Calificarea/diploma obținută: diploma de licență în Drept, Universitate Bogdan Vodă Cluj-Napoca.

Activitatea profesională

2022-în prezent: Cadru didactic titular - conferențiar, Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară din Cluj-Napoca (USAMV Cluj-Napoca)

2016-2022: Cadru didactic titular - șef de lucrări, USAMV Cluj-Napoca.

2013-2016: Cadru didactic titular - șef de lucrări, USAMV Cluj-Napoca.

2011-2013: Cadru didactic asociat, USAMV Cluj-Napoca.

Activitatea științifică

Coordonarea activității de cercetare științifică în domeniul silviculturii

Granturi de cercetare***Responsabil de proiect în două granturi de cercetare:***

Granturile câștigate în competiții, în calitate de responsabil de proiect sunt următoarele:

- Aplicarea unor tehnologii moderne menite să asigure reușita regenerărilor mixte prin utilizarea puieților containerizați în completarea regenerărilor naturale, în scopul menținerii continuității pădurilor și gestionării durabile a acestora, cu aplicabilitate în zona de munte.
- Reconstrucția ecologică a suprafeței de pădure, afectată de calamități și tăieri ilegale, prin tehnologii moderne, integrate gestionării durabile a pădurilor, menite să conducă la creșterea biodiversității ecosistemelor forestiere.

Membru al unor asociații / societăți științifice / profesionale:

Naționale: [Societatea de Horticultură și Silvicultură din Transilvania](#), SHST, membru din 2011; [Asociația Amicii Rozelor din România](#) (afiliată la Federația Mondială a Rozelor), membru

din 2011; [Societatea de Măsurători Terestre și Cadastru din Transilvania \(SMTCT\)](#), membru din 2022.

Activitate editorială și de referent științific

Membru în colective editoriale:

Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca (ISI)
Notulae Scientia Biologicae
Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca,
Forestry and Cadastre

Recenzor (reviewer/recenzor pentru numeroase jurnale ISI și BDI, ex.):

Reviste ISI:

- Forests
- Agronomy
- Sustainability
- Life
- Genes
- Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca

Reviste BDI:

- Notulae Scientia Biologicae
- Bulletin of the UASVM Cluj-Napoca Forestry and Cadastre
- Bulletin of the UASVM Cluj-Napoca Horticulture
- Nova Geodesia

Scientific IDs (link-uri):

- ResearcherID Web of Science ResearcherID: AAT-2183-2021
- Scopus Author ID [hindex=7]: 55481168100;
- Orcid ID: <https://orcid.org/0000-0002-3126-9761> ;
- Google Scholar/Academic: Truta M. Alina
- Brain Map: U-1700-036J-8160

2. PROPUNERE DE DEZVOLTARE A CARIEREI PROFESIONALE, ȘTIINȚIFICE ȘI ACADEMICE

Aspecte generale

De-a lungul istoriei și în toate societățile, profesia de cadru didactic a avut și continuă să aibă un impact semnificativ asupra societății, jucând un rol esențial în dezvoltarea resurselor umane și în formarea generațiilor viitoare.

Pentru România, în contextul schimbărilor din ultimul deceniu, misiunea pedagogică s-a remarcat în special prin formarea și dezvoltarea capacității studenților de a se adapta la fluctuația continuă a informațiilor și la integrarea lor în această perioadă de tranziție spre un învățământ globalizat.

În concepția tradițională, cariera profesională reprezintă o succesiune de etape prin care individul accede la o poziție de prestigiu, caracterizată prin recunoaștere socială și o remunerație

ridicată. Evoluția unei persoane în domeniul său de activitate este asociată atât cu o creștere a veniturilor, cât și cu o extindere a responsabilităților, a influenței și a statutului profesional.

Termenul "carieră" are o semnificație complexă, iar cercetătorii subliniază necesitatea de a face distincția între două dimensiuni esențiale între cariera obiectivă, care vizează dezvoltarea profesională și implică aspecte precum promovarea, specializarea, motivarea și planificarea resurselor umane și cariera subiectivă, care se referă la percepția individuală asupra propriei traiectorii profesionale și la impactul acesteia asupra vieții personale. Cariera didactică are o puternică dimensiune umană, depășind simpla acumulare de cunoștințe și competențe definite prin standarde profesionale. Aceasta presupune, în egală măsură, atitudini, valori și o conștiință profesională profundă, dificil de standardizat. Profesia de cadru didactic implică multiple responsabilități, roluri și competențe, care o diferențiază de alte meserii centrate pe interacțiunea cu oamenii.

Un profesor nu este doar un executant al unor norme prestabilite, ci și un actor activ în procesul educațional, investindu-se personal în activitatea sa, conferindu-i semnificație și implicându-se profund în relația cu elevii sau studenții. Se consideră că „a fi profesor” înseamnă, de fapt, „a deveni profesor”, adică a transforma această meserie într-o veritabilă carieră. Profesorii excelenți sunt cei care reușesc să capteze și să mențină atenția elevilor, să formuleze clar competențele vizate, să coreleze noile cunoștințe cu cele anterioare, să transmită informațiile într-un mod accesibil și convingător, să creeze contexte de învățare adecvate, să ghideze procesul educațional și să obțină feedback constant, utilizând metode variate de evaluare. Acest ideal subliniază importanța formării continue a cadrelor didactice, un aspect esențial în modernizarea sistemului educațional. Formarea continuă este nu doar o necesitate, ci și o obligație reglementată, având rolul de a sprijini evoluția în carieră a profesorului, perfecționarea sa în acord atât cu propriile nevoi, cât și cu cele ale elevilor, studenților și ale societății.

2.1 Dezvoltarea carierei universitare din punct de vedere didactic

În contextul actual, devine tot mai evidentă necesitatea ca procesul de predare-învățare să contribuie la dezvoltarea gândirii critice și a simțului responsabilității individuale. Educația trebuie să le ofere elevilor și studenților capacitatea de a anticipa și de a se adapta schimbărilor din jurul lor, facilitând astfel învățarea continuă pe tot parcursul vieții (Delors, 2000).

Pentru a-și îndeplini rolul cu succes, profesorii trebuie să îmbine talentul și abilitățile pedagogice cu trăsături umane esențiale, precum empatia, răbdarea și deschiderea față de nevoile elevilor sau studenților. Calitatea actului educațional este fundamentală, deoarece un profesor slab pregătit și demotivat poate compromite bazele întregului proces de învățare al unui copil sau

adult. Profesorul universitar, prin statutul său profesional, are responsabilitatea și oportunitatea de a valorifica la maximum potențialul noii generații. Acest lucru este posibil doar atunci când dispune de competențele, abilitățile și capacitățile necesare pentru a-și îndeplini eficient funcțiile didactice și rolurile asociate profesiei. Artă predării nu se limitează la transmiterea de cunoștințe, ci implică și o atitudine adecvată față de studenți, reflectând atât concepția pedagogică asumată, cât și trăsăturile de personalitate ale profesorului. În contextul actual, marcat de schimbări rapide și de o societate globalizată, multiculturală și dinamică, a fi profesor reprezintă o adevărată provocare. Profesorul trebuie să fie un bun colaborator, inovator și activ în misiuni de formare și inițiere de grupuri științifice, flexibil în gândire și acțiune, critic, dar în același timp deschis la propuneri venite din partea tinerei generații. Eforturile cadrelor didactice din ultimii ani au condus la o clasificare excepțională a USAMV Cluj-Napoca la nivel național, în prima categorie valorică a universităților din România („Universități de cercetare avansată și educație”), pe poziția a 5-a, respectiv a poziției programelor de studii gestionate de facultate și departamentul de care aparține postul (prima poziție, în prima categorie, "A", în cadrul Domeniului "Agronomie, Horticultură, Silvicultură, Inginerie forestieră").

Propunerea de dezvoltare a carierei universitare a candidatului trebuie să se axeze obligatoriu și pe cerințele la adresa cadrelor didactice și cercetătorilor, prevăzute de ministerul de resort (Ministerul Educației) și legislația în domeniu (Legea Educației Naționale, acte normative subsecvente acesteia), Carta Universității și regulamente la Carta USAMV, metodologii și norme metodologice interne. De asemenea, trebuie avute în vedere atribuțiile, misiunea și principalele reglementări referitoare la actul educațional și cercetare emise de organisme cu atribuții în funcționarea programelor de studii și evaluarea externă a calității educației (Agenția Română de Asigurare a Calității în Învățământul Superior - ARACIS), stimularea excelenței în cercetarea științifică (Consiliul Național al Cercetării Științifice - CNCS), susținerea și promovarea calității, leadership-ului în învățământul superior, cercetare științifică, dezvoltare și inovare (Unitatea Executivă pentru Finanțarea Învățământului Superior, a Cercetării, Dezvoltării și Inovării – UEFISCDI) etc. Cunoașterea unor asemenea cerințe poate fi extrem de utilă în activitatea de planificare a carierei academice, ca un proces coordonat, în care dezideratele referitoare la orientarea carierei, ocuparea unui post sau evoluție profesională, să fie bazate pe fundamente concrete, respectiv atribuții și responsabilități asumate.

Dezvoltarea unei cariere didactice în domeniul silviculturii, specializările: dendrologie, împăduriri se va baza pe următoarele **obiective generale**:

- dobândirea de noi cunoștințe și competențe prin educație continuă, în paralel cu dezvoltarea și formarea de noi aptitudini și abilități utile în activitatea educațională;

- valorificarea cunoștințelor, competențelor, performanțelor valoroase atât în domeniul silviculturii cât și domenii adiacente postului, în vederea interdisciplinarității;
- implicare și dedicație în formarea profesională și umană a studenților;
- aplicarea și consolidarea printr-o practică neîntreruptă a cunoștințelor dobândite;
- respectarea normelor de etică profesională și deontologică din mediul academic, relații corecte și oneste cu studenții, personalul universității, colegi, colaboratori și membri ai unor unități de învățământ, cercetare și producție;
- vizarea unei evoluții în funcțiile didactice în concordanță cu capacitățile și oportunitățile existente.

Toate aceste obiective cu caracter general pot fi atinse având ca punct de plecare o bună colaborare cu cadrele didactice experimentate. Potrivit lui Marcelo (2009), care a analizat evoluția cadrelor didactice novice, această etapă de formare reprezintă un proces de dezvoltare profesională, în care, prin programe de inițiere, profesorii sunt sprijiniți să își însușească competențe, abilități și cunoștințe esențiale pentru cariera didactică.

Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară din Cluj-Napoca s-a afirmat constant ca una dintre universitățile de stat din România cu rezultate deosebite în activitatea didactică și în formarea profesională a studenților, completată de valoarea absolvenților și capacitatea lor de integrare și afirmare pe piața muncii. Consider că propunerea de dezvoltare a carierei universitare a candidatului din punct de vedere didactic trebuie să includă obiective în concordanță cu statutul și recunoașterea instituției. Obiectivele propuse de candidat să fie susținute de argumente și documente relevante care să demonstreze și capacitatea de dezvoltare a carierei universitare a candidatului, astfel încât acestea, împreună cu propunerea elaborată, să poată constitui criterii obiective de departajare a candidaților.

Printre cele mai importante obiective referitoare la activitatea didactică a oricărui cadru didactic sunt:

- programarea și planificarea activității de predare (curs, seminar/lucrări practice);
- respectarea conținutului tematic al programelor analitice la disciplinele aferente postului, pregătirea corespunzătoare și susținerea pe măsură, cu multă responsabilitate pentru studenți și viitorul acestora, formare aplicativă, practică, elaborare proiecte de licență/disertație etc.;
- pregătirea profesională continuă;
- dezvoltarea unui limbaj profesional-științific accesibil studenților;
- dezvoltarea unui limbaj cadru didactic-student adecvat vârstei, situației și conținutului ce va fi transmis;

- stabilirea unor obiective în vederea evaluării, informarea studenților despre criteriile și modalitățile de evaluare a activității și a rezultatelor lor profesionale;
- responsabilitate și respect față de studenți, implicare și dedicație în pregătirea lor profesională, formarea ca specialiști, formarea-dezvoltarea personalității umane, respectiv formarea intelectuală și socială;
- respectarea eticii și deontologiei profesionale, a comportamentului și ținutei decente în instituție și societate.

Un cadru didactic, pentru a atinge obiectivele privind activitatea didactică trebuie să fie înmagazinat cu vaste cunoștințe din domenii variate, să utilizeze tehnici și metode de predare variate care să stimuleze studenții. Pentru atingerea acestor obiective, cadrul didactic trebuie să țină cont de mai multe criterii în derularea procesului de predare: o perfecționare continuă; să dețină bune capacități orale de transmitere a informației și conținuturilor; o bună înțelegere a informațiilor și formularea întrebărilor adecvate situației; managementul timpului; o învățare activă; spirit autocritic.

Planul didactic se va concretiza în cursurile și laboratoarele la care voi participa, precum și în interacțiunea directă cu studenții. Elementele esențiale ale acestuia includ utilizarea unor materiale și metode adecvate, promovarea acestora, organizarea de competiții între studenți, încurajarea feedback-ului și asigurarea transparenței în procesul educațional.

În procesul de predare, se va urmări dezvoltarea unei relații bazată pe comunicare directă între cadru didactic și student, elaborarea și punerea la dispoziția studenților a îndrumătoarelor (caietelor) de lucrări practice, materiale didactice (suport de curs, fișe de lucru, planșe); publicarea de cărți (cursuri, manuale etc.) în edituri recunoscute CNCS, care să ușureze procesul de însușire a cunoștințelor din domeniu; îndrumarea studenților și către alte surse informaționale (dicționare de specialitate, programe de calculator, internet, etc.); îmbunătățirea permanentă a bazei materiale și a laboratoarelor de specialitate (echipamente, aparatură, materiale, exponate, cărți de specialitate); disponibilitate față de nevoile individuale ale studenților, etc.

Un element esențial în desfășurarea procesului didactic este feedback-ul, care joacă un rol fundamental în îmbunătățirea continuă a actului educațional, fiind strâns legat de procesul de evaluare. Evaluarea reprezintă o activitate complexă de analiză a colaborării dintre profesor și studenți, având ca scop verificarea gradului de îndeplinire a obiectivelor didactice. Aceasta implică atât aprecierea progresului realizat, cât și autoevaluarea studenților, completând astfel ciclul predare-învățare (Giurgiuman, 2002).

2.2 Dezvoltarea carierei universitare din punct de vedere al activităților de cercetare științifică

Propunerea de dezvoltare a carierei universitare a candidatului din punct de vedere al activităților de cercetare în Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară din Cluj-Napoca trebuie să fie în congruență cu statutul unei universități de top din România. Candidatul trebuie să fie conștient de complexitatea standardelor, a eforturilor și realizărilor pe care le-a presupus ocuparea acestui loc de către instituție, precum și de dificultatea menținerii lui în timp, și de faptul că rezultatele obținute în cercetare contribuie în mod hotărâtor la poziționarea universității în clasamentele naționale și internaționale.

Disciplinele „Dendrologie” și „Împăduriri”, prevăzute în Statul de funcții al Departamentului I Silvicultură, Facultatea de Silvicultură și Cadastru, pe lângă partea didactică, prevăd și o deosebită aplicabilitate practică, disciplinele enumerate conțin mai multe aspecte comune. Dendrologia reprezintă una dintre științele de bază din domeniul silviculturii, oferind informații de o mare diversitate în legătură cu speciile lemnoase spontane sau introduse în fondul forestier (morfologie, areal de răspândire, importanță economică și ecologică, însușiri biologice), iar disciplina de împăduriri tratează semințele forestiere, pipinierele forestiere precum și tehnologii de instalare a culturilor forestiere.

Pornind de la aceste considerente, dezvoltarea carierei de cercetător va ținti spre realizarea următoarelor **obiective**:

- continuarea activității de cercetare științifică în domeniul în care am activat până în prezent;
- abordarea unor noi programe de cercetare, conform planurilor operaționale și strategice la nivel de facultate și universitate, respectiv teme de cercetare la nivelul departamentului;
- integrarea în colectivul de cercetare al departamentului și facultății, inclusiv prin abordarea unor teme, programe de cercetare inter- și trans-disciplinare;
- abordarea unor teme de cercetare cu studenții și implicarea acestora cât mai mult în cercetarea științifică de profil;
- valorificarea rezultatelor cercetării prin publicarea de lucrări științifice;
- o implicare activă și consistentă în activitatea de cercetare a departamentului și facultății, contribuind la obținerea de rezultate relevante și la menținerea universității în categoria instituțiilor de cercetare avansată și educație;
- respectarea riguroasă a normelor de etică și bună practică în cercetarea științifică, dezvoltarea tehnologică și inovare.

Îndeplinirea acestor obiective vor avea ca finalitate creșterea reputației științifice a departamentului, a facultății, respectiv a universității.

Planul de cercetare va fi fundamentat pe parteneriatele stabilite cu alte grupuri de cercetare relevante și pe colaborarea în cadrul proiectelor naționale și internaționale, având la bază profesionalismul, experiența și încrederea reciprocă a colaboratorilor.

Ținând seama de disciplinele aferente postului, îmi propun să inițiez, formez și pregătesc studenții pentru abordarea unor problematici largi și variate de cercetare, să-i responsabilizez în privința importanței cercetării în formarea lor profesională și în aplicarea rezultatelor cercetării în practică, să fie capabili să-și organizeze și să deruleze experiențe de cercetare pe baza cărora să elaboreze lucrări pentru simpozioane studențești, simpozioane desfășurate atât în cadrul USAMV cât și la alte universități din țară. În acest sens, din poziția de cadru didactic asociat, în anii universitari 2011-2013, asistent universitar 2013-2016, șef de lucrări 2016-2022, conferențiar 2022 și până în prezent, am avut ocazia de a coordona studenți, împreună cu d.nul Prof. dr. Liviu Holonec și d.na Prof. dr. Adriana Sestraș, la simpozioane științifice studențești (Sesiunea de Comunicări Științifice Studențești organizată de către USAMV Cluj-Napoca, respectiv Sesiunea de Comunicări Științifice Studențești, Suceava, Republica Moldova). De asemenea, partea de cercetare se va reflecta și în proiectele de diplomă în care mă voi implica. Ținând cont de nivelul foarte bun al studenților voi susține pentru ca aceștia să își continue cariera în mediul academic ca masteranzi, cercetători sau doctoranzi.

Strategiile propuse în scopul dezvoltării activității de cercetare prevăd și atragerea de fonduri și crearea unui laborator de cercetare, prin aplicații de proiecte în competițiile de granturi naționale sau internaționale, prin colaborări la nivelul departamentului, facultății, universității, dar și cu parteneri din țară sau din străinătate.

Pe parcursul anilor de activitate am depus numeroase proiecte în cadrul Programului Resurse Umane, Tinere Echipa de Cercetare (TE), competiția 2016, 2019 respectiv 2021, în urma procesului de evaluare, proiectele s-au încadrat a fi eligibile dar nefinanțabile. La ultimul proiect depus în competiția din anul 2021 cu titlul "Responses to abiotic stress factors in some Romanian provenances of *Larix decidua* and the identification of chemical compounds from the bark", în urma evaluării punctajul obținut a fost 85,40, fiind pe prima poziție în lista de rezervă.

Valorificarea rezultatelor cercetării se va asigura prin publicarea de lucrări științifice în jurnale internaționale cu factor de impact, prin publicarea în reviste indexate în baze de date din străinătate și recunoscute CNCSIS, prin participarea la conferințe naționale și internaționale recunoscute (simpozioane, conferințe, workshop-uri etc.) și publicarea de cărți de specialitate la

edituri recunoscute CNCSIS. Realizările personale de până în acest moment pot constitui un argument în plus în realizarea acestui deziderat.

Fundamentele pe care îmi propun să-mi construiesc cariera se bazează pe un set de valori esențiale: feedback-ul, transparența și deschiderea către inovație. Mă bazez pe sprijinul colectivului Departamentului de Silvicultură pentru susținerea acestor principii și pe promovarea lor în rândul colaboratorilor. Consider că dezvoltarea domeniului silviculturii, a disciplinelor conexe, precum și progresul profesional atât al meu, cât și al colaboratorilor mei, depind în mod direct de respectarea și aplicarea acestor valori.

2.3. Corelarea activității de cercetare cu cea didactică

La nivel european, în octombrie 2000 a fost lansat Memorandumul asupra învățării permanente (Comisia Comunităților Europene, ***2000) având drept scop elaborarea unei strategii pentru implementarea conceptului de învățare permanentă la nivel individual și instituțional. Acest concept este definit ca un proces de învățare intenționat și continuu, având ca scop dezvoltarea și îmbunătățirea cunoștințelor, abilităților și competențelor. Chiar dacă stilurile de muncă ale cadrelor didactice sunt diferite, fiecare cadru didactic trebuie să aibă la baza piramidei conceptelor acest termen de învățare permanentă, care în mediul universitar își găsește cel mai potrivit contur în corelarea activității didactice cu cea de cercetare. Un mare beneficiu al muncii de cercetare îl constituie și faptul că cercetătorul este mereu la curent cu inovațiile științifice din domeniul său de activitate, astfel că optimizarea planurilor de învățământ existente, sau a unor elemente, structuri ale acestor corelează în mod pozitiv activitatea educațională cu cea de cercetare științifică. Interdependența dintre misiunea de cercetare și cea didactică trebuie concretizată de către cadrul didactic în promovarea inovațiilor din domeniul său de activitate, în promovarea unor noi laboratoare de specialitate, a unor noi sisteme de evaluare, în introducerea unor noi metode și tehnologii mergând până la introducerea de noi discipline.

Corelarea activității de cercetare cu cea didactică va face apel și va pune accent pe metodele moderne de predare, pe metodele activ-participative. Prin aceste metode se va pune accent pe învățarea prin cooperare, astfel că studenții pot deveni coparticipanți și nu doar receptori de informație. În acest fel, se va stimula dezvoltarea gândirii critice, care presupune deținerea unor informații valoroase și relevante, formarea unor convingeri raționale și opinii proprii, deschiderea către analiza și evaluarea ideilor personale, susținerea argumentată a punctelor de vedere, implicarea activă în identificarea soluțiilor și colaborarea eficientă cu ceilalți.

Evoluția carierei universitare în contextul societății actuale este un proces complex, în care vor interveni roluri noi, motivații și atitudini noi, dar indiferent de contextele sociale, procesul de predare-învățare-evaluare trebuie centrat pe student și pe nevoile acestuia. Procesul educațional are ca scop cultivarea încrederii în învățare, astfel încât studentul să își poată valorifica cunoștințele, competențele și aptitudinile în viitoarea sa carieră. În acest sens, metodele și sistemele de predare, învățare și evaluare trebuie să fie adaptate nevoilor și cerințelor studentului, nu invers.

(B-iii) Bibliografie

1. A'Hara SW, Cottrell JE (2009). Development of a set of highly polymorphic genomic microsatellites (gSSRs) in Sitka spruce (*Picea sitchensis* (Bong.) Carr.). *Mol Breeding* 23:349-355.
2. Abdulla M, Gamal O (2010). Investigation on molecular phylogeny of some date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars by protein, RAPD and ISSR markers in Saudi Arabia. *Aust J Crop Sci* 4:23-28.
3. Ahirvar B.P., Chaudhry, S., Kumar, M., Das, P. (1993). Climate change impact on forest and agrobiodiversity: A special reference to Alm, D.M., Stoller, E.W.; Wax, L.M. An index model for predicting seed germination and emergence rates. *Weed Techn.* 7,560-569.
4. Alotaibi M. (2023). Climate change, its impact on crop production, challenges, and possible solutions. *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca.* 51, 13020.
5. Amarkantak Area, Madhya Pradesh (2020). In *Contemporary Environmental Issues and Challenges in Era of Climate Change*; Singh, P., Singh, R.P., Srivastava, V., Eds.; Springer: Singapore, pp. 65-76.
6. Aravanopoulos F.A.; Tollefsrud M.M.; Graudal L.; Koskela J.; Kätzel R.; Soto A.; Nagy, L.; Pilipovic, A.; Zhelev, P.; Božić, G. (2015). *Development of Genetic Monitoring Methods for Genetic Conservation Units of Forest Trees in Europe*; Bioversity International; European Forest Genetic Resources Programme (EUFORGEN): Rome, Italy.
7. Arcade A, Faivre-Rampant P, Le Guerroué B, Pâques LE, Prat D (1996). Heterozygosity and hybrid performance in larch. *Theor Appl Genet* 93: 1274-1281.
8. Awasthi P.; Karki, H.; Vibhuti; Bargali, K.; Bargali, S. (2016). Germination and seedling growth of pulse crop (*Vigna* spp.) as affected by soil salt stress. *Curr. Agric. Res.* 4, 159-170.
9. Baldrian P.; López-Mondéjar, R.; Kohout, P. (2023). Forest microbiome and global change. *Nat. Rev. Microbiol.* 21, 487-501.
10. Banful B.K.; Attivor, D. (2017). Growth and yield response of two hybrid rice cultivars to Atonik plant growth regulator in a tropical environment. *J. Environ. Earth Ecol.* 1, 33-45.
11. Bauer O. (2012). Die Sudetenlärche. *Berichte der Bayrischen Landesanstalt für Wald und Forstwirtschaft* 69, 72-75.
12. Becker M.; Bert, G.D.; Landmann, G.; Lévy, G.; Rameau, J.C.; Ulrich, E. (1995). Growth and decline symptoms of silver fir and Norway spruce in northeastern France: Relation to

- climate, nutrition and silviculture. In *Forest Decline and Atmospheric Deposition Effects in the French Mountains*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany. pp. 120-142.
13. Belcher B.M. (2005). Forest product markets, forests and poverty reduction. *Int. For. Rev.* 7, 82-89.
14. Bennis M.; Perez-Tapia, V.; Alami, S.; Bouhnik, O.; Lamin, H.; Abdelmoumen, H.; El Idrissi, M.M. (2022). Characterization of plant growth-promoting bacteria isolated from the rhizosphere of *Robinia pseudoacacia* growing in metal-contaminated mine tailings in eastern Morocco. *J. Environ. Manag.* 304, 114321.
15. Bewley J.D.; Black, M. (1994). Dormancy and the control of germination. In *Seeds*; Springer: Boston, MA, USA. pp. 199-271.
16. Bilasco S.; Rosca S.; Pacurar I.; Moldovan N.; Bot A.; Negrusier C.; Sestras, P.; Bondrea M.; Nas S. (2016). Identification of land suitability for agricultural use by applying morphometric and risk parameters based on GIS spatial analysis. *Not. Bot. Horti Agrobi.* 44, 302-312.
17. Biswas C. and B. M. Mohri (1997). *The gymnosperms*. Springer, Berlin.
18. Blada I (1977). Genetic breeding of the resistance of Douglas-fir and larch to main diseases and pests. *Ann For Res* 34:19-32
19. Bolte A.; Ammer C.; Löf, M.; Madsen P.; Nabuurs, G.-J.; Schall, P.; Spathelf P.; Rock J., (2009). Adaptive forest management in central Europe: Climate change impacts, strategies and integrative concept. *Scand. J. For. Res.* 24, 473-482.
20. Boncaldo E.; Bruno G.; Sicoli G.; Tommasi F.; Mastropasqua L. (2010). Germinability and fungal occurrence in seeds of *Abies alba* Mill. populations in southern Italy. *Plant Biosyst.* 144, 740-745.
21. Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet* 32: 314-331.
22. Bouteiller X.P.; Moret F.; Ségura R.; Klisz M.; Martinik, A.; Monty A.; Pino J.; van Loo, M.;Wojda T.; Porté A.J. (2021). The seeds of invasion: Enhanced germination in invasive European populations of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) compared to native American populations. *Plant Biol.* 23, 1006-1017.
23. Bradbeer J.W. (2013). *Seed Dormancy and Germination*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany.
24. Bravo-Navas M.V.; Sánchez-Romero C. (2022). Germination behavior and early seedling growth in *Abies pinsapo* Boiss. seeds. *Plants*, 11, 2715.

25. Bruchwald A, Zasada M (2010). Growth model for European larch (*Larix decidua* Mill.). *Sylwan* 154: 615-624.
26. Bucci G, Vendramin GG, Lelli L, Vicario F (1997). Assessing the genetic divergence of *Pinus leucodermis* Ant. Endangered populations: use of molecular markers for conservation purposes. *Theor Appl Genet* 95: 1138-1146.
27. Butin EE, Havill NP, Elkinton JS, Montgomery ME (2004). Feeding preference of three lady beetle predators of the hemlock woolly Adelgid (Homoptera: Adelgidae). *J Econ Entomol* 97:1635-1641
28. Butin H (1995). *Tree diseases and disorders*. Oxford Press, Oxford.
29. Campobenedetto C.; Grange E.; Mannino G.; Van Arkel J.; Beekwilder J.; Karlova R.; Berteà C.M. (2020). A biostimulant seed treatment improved heat stress tolerance during cucumber seed germination by acting on the antioxidant system and glyoxylate cycle. *Front. Plant Sci.* 11, 836.
30. Carabeo M, Simeone MC, Cherubini M, Mattia C, Chiocchini F, Bertini L, Caruso C, La Mantia T, Villani F, Mattionia C (2016). Estimating the genetic diversity and structure of *Quercus trojana* Webb populations in Italy by SSRs: implications for management and conservation. *Can J Forest Res* 47: 331-339.
31. Carter K, Adams K, Greenwood GW, Nitschke MS (1990). Early family selection in jack pine. *Can J For Res* 20: 285-291.
32. Castro J. (1999). Seed mass versus seedling performance in Scots pine: A maternally dependent trait. *New Phytol.* 144, 153-161.
33. Chambel M.R.; Climent J.; Alia, R.; Valladares F. (2005). Phenotypic plasticity: A useful framework for understanding adaptation in forest species. *For. Syst.* 14, 334-344.
34. Chiapusio G.; Sanchez A.M.; Reigosa M.J.; Gonzalez L.; Pellissier F. (1997). Do germination indices adequately reflect allelochemical effects on the germination process? *J. Chem. Ecol.* 23, 2445-2453.
35. Chiapusio G.; Sánchez A.M.; Reigosa M.J.; González L.; Pellissier F. (1997). Do germination indices adequately reflect allelochemical effects on the germination process? *J. Chem. Ecol.* 23, 2445-2453.
36. Chika P.J.; Sakpere A.M.; Akinropo M.S. (2020). Effect of pretreatments on germination of seeds of the timber plant, *Terminalia ivorensis* and *Mansonia altissima* (a. Chev.). *Not. Sci. Biol.* 12, 334-340.
37. Chuine I, Aitken S, Ying C (2001). Temperature thresholds of shoot elongation in provenances of *Pinus contorta*. *Can J For Res* 31:1444-1455.

38. Cierjacks A.; Kowarik I.; Joshi J.; Hempel S.; Ristow M.; von der Lippe M.; Weber, E. (2013). Biological Flora of the British Isles: *Robinia pseudoacacia*. J. Ecol. 101, 1623-1640.
39. Cleland EE, Chuine I, Menzel A, Mooney HA, Schwartz MD (2007). Shifting plant phenology in response to global change. Trends in Ecology and Evolution 22: 357-365.
40. Covasa M.; Slabu C.; Marta, A.E.; Jitareanu C.D. (2023). Increasing the salt stress tolerance of some tomato cultivars under the influence of growth regulators. Plants 12, 363.
41. Cremer E.; Ziegenhagen B.; Schulerowitz K.; Mengel C.; Donges, K.; Bialozyt R.; Hussendörfer E.; Liepelt S. (2012). Local seed dispersal in European silver fir (*Abies alba* Mill.): Lessons learned from a seed trap experiment. Trees 26, 987-996.
42. Cruz O.; Riveiro S.F.; Arán D.; Bernal J.; Casal M.; Reyes O. (2021). Germinative behaviour of *Acacia dealbata* Link, *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle and *Robinia pseudoacacia* L. in relation to fire and exploration of the regenerative niche of native species for the control of invaders. Glob. Ecol. Conserv. 31, e01811.
43. Curtu AL, Sofletea N, Radu R, Bacea A, Abrudan IV, Butiuc-Keul A, Farcas S (2009). Allozyme variation of coniferous tree species from Maramures Mountains, Romania. Not Bot Horti Agrobi 37:245-251
44. Daffalla H.M.; Ali K.S.; Osman M.G.; Yahya Y.O. Rapid germination and development of *Acacia sieberiana* DC in vitro. Not. Sci. Biol. 2022, 14, 11176.
45. DeGomez, T.; Wagner, M.R. (2001). Culture and use of black locust. Hort. Technol. 11, 279-288.
46. Deng JF, Zhang HG, Zhang L, Guan CY, Zhang L (2010). Genetic variation of 17-year-old hybrid larch and its superior family selection. J North For Univ 38: 8-11.
47. Djanaguiraman M.; Sheeba J.A.; Devi D.D.; Bangarusamy U. (2005). Effect of Atonik seed treatment on seedling physiology of cotton and tomato. J. Biol. Sci 5, 163-169.
48. Doyle JJ, Doyle JL (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem Bull 19: 11-15.
49. Earl DA (2012). Structure Harvester: A website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. Conserv Genet Resour 4: 359-361.
50. Ermolaev IV, Ermolaeva MV (2001) The effect of larch casebearer on larch growth and reproductive organ formation. Russ J Plant Physiol 50:200-205.
51. Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. Mol Ecol 14: 2611-2620.

52. Fady B.; Cottrell J.; Ackzell L.; Alía R.; Muys B.; Prada A.; González-Martínez S.C. (2016). Forests and global change: What can genetics contribute to the major forest management and policy challenges of the twenty-first century? *Reg. Environ. Chang.* 927-939. *Forests* 14, 2186.
53. Farjon A. (2010). *A Handbook of the World's Conifers*, Brill, Leiden, Boston.
54. Felsenstein J (2007). *PHYLP (Phylogeny Inference Package) Version 3.67*. Seattle, WA, USA: Department of Genome Sciences, University of Washington.
55. Ferreras A.E.; Galetto L. (2010). From seed production to seedling establishment: Important steps in an invasive process. *Acta Oecol.* 36, 211-218.
56. Fetouh M.; Hassan, F. (2014). Seed germination criteria and seedling characteristics of *Magnolia grandiflora* L. trees after cold stratification treatments. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 3, 235-241.
57. Fore, J.Jr, I.R Wiechers, R. Cook-Deegan (2006). The Effects of Business Practices, Licensing, and Intellectual Property on Development and Dissemination of the Polymerase Chain Reaction: Case Study; *Journal of Biomedical Discovery and Collaboration*, 1-17.
58. Gál J. (2012). Influence of regeneration method on the yield and stem quality of Black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) stands: A case study. *Acta Silv. Lignaria Hung.* 8, 103-112.
59. Ganatsas P.; Tsakalimi M. (2013). A comparative study of desiccation responses of seeds of three drought-resistant Mediterranean oaks. *For. Ecol. Manag.* 305, 189-194.
60. Geburek T. (2010). *Larix decidua* Miller, 1768. In: *Bäume Mitteleuropas* (eds. Roloff A, Weissgerber H, Lang U, Stimm B), pp. 431-450. Wiley-Vch, Weinheim.
61. Gierlinger N., D. Jacques M. Grabner R. Wimmer M. Schwanninger P. Rozenberg and L. E Pâques (2004). Colour of larch heartwood and relationships to extractives and brown-rot decay resistance. *Trees-structure and function*, 18, 102-108.
62. Giovanetti M.; Aronne, G. (2013). Honey bee handling behaviour on the papilionate flower of *Robinia pseudoacacia* L. *Arthropod Plant Interact.* 7, 119-124.
63. Girona M.M.; Aakala T.; Aquilué N.; Bélisle A.C.; Chaste E.; Danneyrolles V.; Díaz-Yáñez O.; D'Orangeville L.; Grosbois G.; Hester, A. (2023). Challenges for the Sustainable Management of the Boreal Forest Under Climate Change. In *Boreal Forests in the Face of Climate Change. Advances in Global Change Research*; Girona, M.M., Morin, H., Gauthier, S., Bergeron, Y., Eds.; Springer: Cham, Switzerland, Volume 74.

64. Giuliani C.; Lazzaro L.; Calamassi R.; Fico G.; Foggi B.; Mariotti Lippi M. (2019). Induced water stress affects seed germination response and root anatomy in *Robinia pseudoacacia* (Fabaceae). *Trees* 33, 1627-1638.
65. Giuliani C.; Lazzaro L.; Mariotti Lippi M.; Calamassi R.; Foggi B. (2015). Temperature-related effects on the germination capacity of black locust (*Robinia pseudoacacia* L., Fabaceae) seeds. *Folia Geobot.* 50, 275-282.
66. Goto S, Thakur RC, Ishii K (1998). Determination of genetic stability in long-term micropropagated shoots of *Pinus thunbergii* Parl. using RAPD markers. *Plant Cell Reports* 18: 193-197.
67. Graham J., R.J. McNicol K. Grieg W.T.G. Van de Ven (1994). Identification of red raspberry cultivars and an assessment of their relatedness using fingerprints produced by random primers; *J. Hortic. Sci.*, 69: 123-130
68. Guo SW, Thompson EA (1992). Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48: 361-372.
69. Habermann M (2000). The larch casebearer and its host tree: I. Population dynamics of the larch casebearer (*Coleophora laricella* Hbn.) from latent to outbreak density in the field. *Forest Ecol Manag* 136:11-22
70. Habermann M, Ott A (2009). Feeding patterns of the larch casebearer *Coleophora laricella* Hbn. (Lep., Coleophoridae) on European larch. *J Appl Entomol* 119:581-584
71. Halpin, P.N. (1997). Global climate change and natural-area protection: Management responses and research directions. *Ecol. Appl.* 8:828-843.
72. Hammer Ø.; Harper D.A.T.; Ryan P.D. (2001). PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.* 4, 4-9.
73. Hampl V, Pavlicek A, Flegl J (2001). Construction and bootstrap analysis of DNA fingerprinting-based phylogenetic trees with the freeware program FreeTree: application to Trichomonad parasites. *Int J Syst Evol Microbiol* 51: 731-735.
74. Hamrick JL (2004). Response of forest trees to global environmental changes. *Forest Ecol Manag* 197: 323-335.
75. Hidayati S.N.; Baskin, J.M.; Baskin, C.C. (2001). Dormancy-breaking and germination requirements for seeds of *Symphoricarpos orbiculatus* (Caprifoliaceae). *Am. J. Bot.* 88, 1444-1451.
76. Hodgson DJ (2001). Monoclonal aphid colonies and the measurement of clonal fitness. *Ecol Entomol* 26:444-448.
77. Holland JB, Nyquist WE, Cervantes-Martinez CT (2003). Estimating and interpreting heritability for plant breeding: an update. *Plant Breed Rev* 22:9-112

78. Holonec R.; Viman O.; Morar I.M.; Sîngeorzan S.; Scheau C.; Vlasin H.D.; Truta P.; Criveanu H.; Holonec L.; Truta A.M. (2021). Non-chemical treatments to improve the seeds germination and plantlets growth of sessile oak. *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca*, 49, 12401.
79. Hossain M.A.; Arefin M.K.; Khan B.M.; Rahman M.A. (2005). Effects of seed treatments on germination and seedling growth attributes of Horitaki (*Terminalia chebula* Retz.) in the nursery. *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 1, 135-141.
80. Huth F.; Wehnert A.; Tiebel K.; Wagner S. (2017). Direct seeding of silver fir (*Abies alba* Mill.) to convert Norway spruce (*Picea abies* L.) forests in Europe: A review. *For. Ecol. Manag.* 403, 61-78.
81. Islam A.K.; Anuar N.; Yaakob Z. (2003). Effect of genotypes and pre-sowing treatments on seed germination behavior of *Jatropha*. *Asian J. Plant Sci.* 8, 433-439.
82. Islam A.K.M.; Anuar N.; Yaakob Z. (2009). Effect of genotypes and pre-sowing treatments on seed germination behavior of *Jatropha*. *Asian J. Plant Sci.* 8, 433-439.
83. Isoda K, Watanabe A (2006). Isolation and characterization of microsatellite loci from *Larix kaempferi*. *Mol Ecol Resour* 6: 664-666.
84. ISTA (2013). International Rules for Seed Testing, 2013rd ed.; International Seed Testing Association: Bassersdorf, Switzerland.
85. Ivetic V.; Tsakalimi M.; Ganatsas P.; Kerkez Jankovic, I.; Devetakovic, J. (2021). Freezing and heating tolerance of *Pinus nigra* seedlings from three south to North Balkan provenances. *Sustainability* 13, 9290.
86. Jastrzebowski S.; Ukalska J.; Kantorowicz W.; Klisz M.; Wojda T.; Sułkowska M. (2017). Effects of thermal-time artificial scarification on the germination dynamics of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) seeds. *Eur. J. For. Res.* 136, 471-479.
87. Javaid M.M.; Mahmood A.; Alshaya D.S.; AlKahtani M.D.F.; Waheed H.; Wasaya A.; Khan S.A.; Naqve M.; Haider, I.; Shahid M.A. (2022). Influence of environmental factors on seed germination and seedling characteristics of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Sci. Rep.* 12, 9522.
88. Jones J.; Ellison D.; Ferraz S.; Lara A.; Wei X.; Zhang Z. (2022). Forest restoration and hydrology. *For. Ecol. Manag.* 520, 120342.
89. Kader M.A. (2005). A comparison of seed germination calculation formulae and the associated interpretation of resulting data. *J. Proc. R. Soc. New South Wales* 138, 65-75.
90. Kang H (1991). Recurrent selection, mating design, and effective population size. In: *Proceedings 21st Southern Forest Tree Improvement Conference June 1991, Knoxville, TN, USA*, pp.129-143.

91. Keeling C.I.; Lewis A.R.; Kolotelo D.; Russell J.H.; Kermode A.R. (2018). Resin vesicles in conifer seeds: Morphology and allelopathic effects. *Can. J. For. Res.* 48, 1515-1525.
92. Keenan R.J. (2015). Climate change impacts and adaptation in forest management: A review. *Ann. For. Sci.* 72, 145-167.
93. Kheloufi A.; Mansouri L.; Aziz N.; Sahnoune M.; Boukemiche S.; Ababsa B. (2018). Breaking seed coat dormancy of six tree species. *Reforesta* 5, 4-14.
94. Kongkiatngam P, Waterway MJ, Coulman BE, Fortin MG (1996). Genetic variation among cultivars of red clover (*Trifolium pratense* L.) detected by RAPD markers amplified from bulk genomic DNA. *Euphytica* 89: 355-361.
95. Koulelis P.P.; Proutsos, N.; Solomou, A.D.; Avramidou, E.V.; Malliarou, E.; Athanasiou, M.; Xanthopoulos, G.; Petrakis, P.V. (2023). Effects of climate change on greek forests: A review. *Atmosphere* 14, 1155.
96. Kozyrenko MM, Artyukova EV, Reunova GD, Levina EA, Zhuravlev Yu N (2004). Genetic diversity and relationships among Siberian and far Eastern larches inferred from RAPD analysis. *Russ J Genet* 40: 401-409.
97. Kraft T, Säll T (1999). An evaluation of the use of pooled samples in studies of genetic variation. *Heredity* 82: 488-494.
98. Krause SC, Raffa KF (1992). Comparison of insect, fungal and mechanically induced defoliation of larch: effects on plant productivity and subsequent host susceptibility. *Oecologia* 90:411-416
99. Lamont B.B.; He T.; Yan Z. (2019). Evolutionary history of fire-stimulated resprouting, flowering, seed release and germination. *Biol. Rev.* 94, 903-928.
100. Larionova AI, Iakhneva NV, Abaimov AP (2004). Genetic diversity and differentiation of Gmelin larch *Larix gmelinii* populations from Evenkia (Central Siberia). *Genetika* 40: 1370-1377.
101. Leonarduzzi C, Spanu I, Labriola M, González-Martínez SC, Piotti A, Vendramin GG (2016). Development and characterization of three highly informative EST-SSR multiplexes for *Pinus halepensis* Mill. and their transferability to other Mediterranean pines. *Plant Mol Biol Rep* 34: 993-1002.
102. Levina EA, Adrianova IYu, Reunova GD, Zhuravlev YuN (2008). Genetic variability and differentiation in the larch populations within the range of *Larix olgensis* A. Henry in Primorye. *Russ J Genet* 44: 320-325.

103. Lewandowski A, Burczyk J (2000). Mating system and genetic diversity in natural populations of European larch (*Larix decidua*) and stone pine (*Pinus cembra*) located at higher elevations. *Silvae Genet* 49: 158-160.
104. Lewandowski A, Mejnartowicz L (1991). Levels and patterns of allozyme variation in some European larch *Larix-decidua* populations. *Hereditas* 115: 221-226.
105. Li B, Wyckoff GW (1994). Breeding strategies for *Larix decidua*, *L. leptolepis* and their hybrids in the United States. *Forest Genetics* 1: 65-72.
106. Li, Y.; Li, X.; Zhao, M.-H.; Pang, Z.-Y.; Wei, J.-T.; Tigabu, M.; Chiang, V.L.; Sederoff, H.; Sederoff, R.; Zhao, X.-Y. (2021). An overview of the practices and management methods for enhancing seed production in conifer plantations for commercial use. *Horticulturae* 7, 252.
107. Liu K, Muse SV (2005). PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics* 21:2128-2129.
108. Lucas-Borja, M.E.; Candel-Pérez, D.; Onkelinx, T.; Fule, P.Z.; Moya, D.; De las Heras, J.; Tíscar, P.A. (2017). Seed origin and protection are important factors affecting post-fire initial recruitment in pine forest areas. *Forests* 8, 185.
109. Lukkarinen A. J., S. Ruotsalainen T. Nikkanen and H. Peltola (2010). Survival, Height Growth and Damages of Siberian (*Larix sibirica* Ledeb.) and Dahurian (*Larix gmelinii* Rupr.) Larch Provenances in Field Trials Located in Southern and Northern Finland. *Silva Fennica* 44(5):727-747.
110. Maier J (1992). Genetic variation in European larch (*Larix decidua* Mill). *Ann Sci Forest* 49: 39-47.
111. Marchal A, Muñoz F, Millier F, Sánchez L, Pâques LE (2017). Hybrid larch heterosis: for which traits and under which genetic control? *Tree Genet Genomes* 13: 92.
112. Maresi G, Capretti P, Ambrosi P, Minerbi S (2004). Larch crown diseases in Trentino and South Tyrol. *J Forest Sci* 50:313–318
113. Marsz A.A.; Sobkowiak L.; Styszynska, A.; Wrzesinski, D. (2022). Causes and course of climate change and its hydrological consequences in the Greater Poland Region in 1951–2020. *Quaest. Geogr.* 41, 183-206.
114. Masaka K.; Yamada K. (2009). Variation in germination character of *Robinia pseudoacacia* L. (Leguminosae) seeds at individual tree level. *J. For. Res.* 14, 167–177.
115. Matras J, Pâques L (2008). EUFORGEN Technical Guidelines for Genetic Conservation and Use for European Larch (*Larix decidua*). Rome, Italy: Bioversity International.

116. Matziris D (1993). Variation in cone production in a clonal seed orchard of black pine. *Silvae Genetica* 42:136-141
117. McCartan S.; Jinks R. (2015). Upgrading seed lots of European silver fir (*Abies alba* Mill.) using imbibition-drying-separation. *Tree Plant. Notes* 58, 21-27.
118. McDowell N.G.; Williams A.P.; Xu C.; Pockman W.T.; Dickman L.T.; Sevanto S.; Pangle R.; Limousin J.; Plaut J.; Mackay D.S. (2016). Multi-scale predictions of massive conifer mortality due to chronic temperature rise. *Nat. Clim. Chang.* 6, 295-300.
119. Meng ZJ, Yan SC, Yang CP, Jin H, Hu H (2011). Behavioural responses of *Dendrolimus superans* and *Anastatus japonicus* to chemical defences induced by application of jasmonic acid on larch seedlings. 14th Scientific Conference of the International Boreal Forest Research Association-The Roles of Boreal Forests in a Global Context [Special issue]. *Scand J Forest Res* 26:53-60.
120. Mihai G.; Teodosiu M (2009). Genetic diversity and breeding of larch (*Larix decidua* Mill.) in Romania. *Ann For Res* 52: 97-108.
121. Mihai G.; Alexandru, A.M. (2021). *Silver Fir Seeds Conservation*; Forestry Publishing: Bucharest, Romania; p. 65.
122. Mirzaei M.; Moghadam A.R.L.; Ardebili Z.O. (2013). The induction of seed germination using sulfuric acid, gibberellic acid and hot water in *Robinia pseudoacacia* L. *Int. Res. J. Appl. Basic Sci.* 4, 96-98.
123. Mondoni A.; Tazzari E.R.; Zubani, L.; Orsenigo S.; Rossi, G. (2013). Percussion as an effective seed treatment for herbaceous legumes (Fabaceae): Implications for habitat restoration and agriculture. *Seed Sci. Technol.* 41, 175-187.
124. Mozdzen K.; Barabasz-Krasny B.; Stachurska-Swakon, A.; Zandi, P.; Puła J.; Wang Y.; Turisova I. (2020). Allelopathic interaction between two common meadow plants: *Dactylis glomerata* L. and *Trifolium pratense* L. *Biologia*, 75, 653-663.
125. Nagaike T., A. Hayashi and M. Kubo (2010). Diversity of naturally regenerating tree species in the overstorey layer of *Larix kaempferi* plantations and abandoned broadleaf coppice stands in central Japan *Forestry* 83(3): 285-291.
126. Nardin M, Musch B, Rousselle Y, Guérin V, Sanchez L, Rossi JP, Gerber S, Marin S Pâques L, Rozenberg P (2015). Genetic differentiation of European larch along an altitudinal gradient in the French Alps. *Ann For Sci* 72: 517-527.
127. Nawrot M., W. Pazdrowski M. Szymanski and K. Kamierczak (2009). Wood quality of butt logs in European larch (*Larix decidua* Mill.) and diameter increment dynamics. *Annals of Warsaw University of Life Sciences-SGGW, Forestry and Wood Technology* 69:104-108.

128. Nei M (1972). Genetic distance between populations. *Am Nat* 106: 283-292.
129. Nicolescu V.N.; Hernea C.; Bakti B.; Keseru Z.; Antal B.; Rédei K. (2018). Black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) as a multipurpose tree species in Hungary and Romania: A review. *J. For. Res.* 29, 1449-1463.
130. Nishimura M, Setoguchi H (2011). Homogeneous genetic structure and variation in tree architecture of *Larix kaempferi* along altitudinal gradients on Mt. Fuji. *J Plant Res* 124: 253-263.
131. Olson D.F., Jr.; Barnes R.L.; Karrfalt R.P. (2008). *Sabal palmetto*. In *The Woody Plant Seed Manual*; USDA:Washington, DC, USA, pp. 997-999.
132. Oreshkova NV, Belokon MM, Jamiyansuren S (2013). Genetic diversity, population structure, and differentiation of Siberian larch, Gmelin larch, and Cajander larch on SSR-marker data. *Russ J Genet* 49: 178-186.
133. Oreshkova NV, Larionova AY, Milyutin LI, Abaimov AP (2006). Genetic diversity structure and differentiation of Gmelin Larch (*Larix gmelinii* (Rupr.) Rupr.) populations from Central Evenkia and Eastern Zabaikalje. *Eurasian J For Res* 9: 1-8.
134. Pandey MK, Gautami B, Jayakumar T, Sriswathi M, Upadhyaya HD, Gowda MVC, Radhakrishnan T, Bertoli D, Knapp SJ, Cook DR et al. (2012). Highly informative genic and genomic SSR markers to facilitate molecular breeding in cultivated groundnut (*Arachis hypogaea*). *Plant Breeding* 131: 139-147.
135. Paques L.E., G. Sylvestre-Guinot, C. Delatour (2000). Genetic variation among clones of *Larix decidua polonica* for resistance to *Lachnellula willkommii*. *Annals of Forest Science*, 56(2):155-166.
136. Paques LE, Millier F, Rozenberg P (2010). Selection perspectives for genetic improvement of wood stiffness in hybrid larch (*Larix x eurolepis* Henry). *Tree Genet Genomes* 6: 83-92.
137. Pârnută, G.; Stuparu, E.; Budeanu, M.; Scarlatescu, V.; Marica, F.M.; Lalu, I.; Curtu, A.L. (2011). *Catalogul Național al Resurselor Genetice Forestiere* [National Catalogue of Forest Genetic Resources]; Editura Silvica: Voluntari, Romania. (In Romanian).
138. Paulsen T.R.; Colville L.; Kranner I.; Daws, M.I.; Högestedt G.; Vandvik V.; Thompson K. (2013). Physical dormancy in seeds: A game of hide and seek? *New Phytol.* 198, 496-503.
139. Pazdrowski W, Jelonek T, Tomczak A, Stypula I, Splawa-Neyman S (2007). Proportion of sapwood and heartwood and selected biometric features in larch trees (*Larix decidua* Mill). *Wood Research* 52: 1-16.

140. Peakall ROD, Smouse PE (2012). GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research an update. *Bioinformatics* 28: 2537-2539.
141. Pedrol N.; Puig C.G.; López-Nogueira A.; Pardo-Muras M.; González L.; Alonso, P.S. (2017). Optimal and synchronized germination of *Robinia pseudoacacia*, *Acacia dealbata* and other woody Fabaceae using a handheld rotary tool: Concomitant reduction of physical and physiological seed dormancy. *J. For. Res.* 29, 283-290.
142. Piepho HP, Mohring J (2007). Computing heritability and selection response from unbalanced plant breeding trials. *Genetics* 177:1881-1888.
143. Pinna M.S.; Mattana E.; Cañadas E.M.; Bacchetta G. (2014). Effects of pre-treatments and temperature on seed viability and germination of *Juniperus macrocarpa* Sm. *Comp. Rend. Biol.* 337, 338-344.
144. Pluess AR (2011). Pursuing glacier retreat: genetic structure of a rapidly expanding *Larix decidua* population. *Mol Ecol* 20: 473-485.
145. Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
146. Rajora O.P.; Mosseler, A. (2001). Challenges and opportunities for conservation of forest genetic resources. *Euphytica* 118, 197-212.
147. Ratnam W.; Rajora O.P.; Finkeldey R.; Aravanopoulos F.; Bouvet J.M.; Vaillancourt R.E.; Kanashiro M.; Fady B.; Tomita M.; Vinson C. (2014). Genetic effects of forest management practices: Global synthesis and perspectives. *For. Ecol. Manag.* 333, 52-65.
148. Reeves PA, Bowker CL, Fettig CE, Tembrock LR, Richards CM (2016). Effect of error and missing data on population structure inference using microsatellite data. Preprint. *bioRxiv*: 080630.
149. Richter S.; Kipfer T.; Wohlgemuth T.; Calderón Guerrero C.; Ghazoul J.; Moser, B. (2012). Phenotypic plasticity facilitates resistance to climate change in a highly variable environment. *Oecologia* 169, 269-279.
150. Roman A.M.; Morar I.M.; Truta A.M.; Dan C.; Sestras A.F.; Holonec L.; Ioras F.; Sestras R.E. (2020). Trees, seeds and seedlings analyses in the process of obtaining a quality planting material for black locust (*Robinia pseudoacacia* L.). *Not. Sci. Biol.* 12,940-958.
151. Roman A.M.; Truta A.M.; Morar I.M.; Viman O.; Dan C.; Sestras A.F.; Holonec L.; Boscaiu M.; Sestras R.E. (2022). From seed to seedling: Influence of seed geographic

- provenance and germination treatments on reproductive material represented by seedlings of *Robinia pseudoacacia*. Sustainability 14, 5654.
152. Roman A.M.; Truta A.M.; Viman O.; Morar I.M.; Spalevic V.; Dan C.; Sestras R.E.; Holonec L.; Sestras A.F. (2022). Seed germination and seedling growth of *Robinia pseudoacacia* depending on the origin of different geographic provenances. Diversity14, 34.
153. Saitou N, Nei M (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol Biol Evol 4: 406-425.
154. Salaj T.; Klubicová K.; Matusova R.; Salaj J. (2019). Somatic embryogenesis in selected conifer trees *Pinus nigra* arn. and *Abies* hybrids. Front. Plant Sci. 10, 13.
155. San Jose-Maldia L, Uchida K, Tomaru N (2008). Mitochondrial DNA variation in natural populations of Japanese larch (*Larix kaempferi*). Silv Genet 58: 234-241.
156. Sano M, Ozaki K (2012). Variation and evolution of the complex life cycle in Adelgidae (Hemiptera). Entomol Sci 15:13-22.
157. Schlötterer C, Tobler R, Kofler R, Nolte V (2014). Sequencing pools of individuals - mining genome-wide polymorphism data without big funding. Nat Rev Genet 15: 749-763.
158. Sestras AF, Pamfil D, Dan C, Bolboaca SD, Jañtschi L, Sestras RE (2011). Possibilities to improve apple scab (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.) and powdery mildew [*Podosphaera leucotricha* (Ell. et Everh.) Salm.] resistance on apple by increasing genetic diversity using potentials of wild species. Aust J Crop Sci 5:748-755.
159. Sestras RE, Moldovan SD, Popescu CF (2008). Variability and heritability of several important traits for grape production and breeding. Not Bot Horti Agrobot 36:88-97.
160. Sestras A.F. (2018). Biostatistica si Tehnica Experimentala Forestiera: Manual Didactic; Editura Academic Press: Cluj-Napoca, Romania.
161. Sestras P.; Bondrea M.V.; Cetean H.; Salaeen T.; Bilasco S.; Nas S.; Spalevic V.; Fountas S.; Cîmpeanu S.M. (2018). Ameliorative ecological and landscape roles of Faget Forest, Cluj-Napoca, Romania, and possibilities of avoiding risks based on GIS landslide susceptibility map. Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca 46, 292-300.
162. Sestraș R., D. Pamfil M. Ardelean C. Botez A. Sestraș I. Mitre C. Dan L. Mihalte (2009). Use of Phenotypic and MAS Selection Based on Bulk Segregant Analysis to Reveal the Genetic Variability Induced by Artificial Hybridization in Apple, Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 37:1, 273-277.

163. Shahraji TR, Kazempour MN, Adbesh Z (2009). Genetic (RAPD) diversity in loblolly pine unknown provenance plantation in Iran. *Indian J Hort* 66: 35-38.
164. Shearer RC (2008). *Larix* Mill., In: Bonner FT, Karrfalt RP editors. *The Woody Plant Seed manual Agric. Handbook no 727*. Washington DC, USA, pp. 637-650.
165. Sîngeorzan S.; Cret D.; Grosariu D.; Holonec L.; Truta A. (2019). Aspects regarding the stimulation of seeds' germination and the seedlings' growth in *Pinus pinea*. *J. Hort. For. Biotech.* 23, 113-117.
166. Stoian-Dod R.L.; Dan C.; Morar I.M.; Sestras A.F.; Truta A.M.; Roman G.; Sestras R.E. (2023). Seed germination within genus *Rosa*: The complexity of the process and influencing factors. *Horticulturae* 9, 914.
167. Surles S.E.; Hamrick J.L.; Bongarten B.C. (1989). Allozyme variation in black locust (*Robinia pseudoacacia*). *Can. J. For. Res.* 19, 471-479.
168. Sweeney PM, Danneberger TK (1994). Random amplified polymorphic DNA in perennial ryegrass: a comparison of bulk samples vs. individuals. *Hort Science* 29: 624-626.
169. Tabakovic-Tosic M, Tosic D, Rajkovic S, Golubovic-Curguz V, Rakonjac L (2011). Invasion species *Coleophora laricella*-One of the main limiting factors of *Larix decidua* during the forest aforestation and recultivation. *Afr J Agr Res* 6:866-872.
170. Tanovski V.; Matovic B.; Kesic L.; Stojanovic B.D. (2022). A review of the influence of climate change on coniferous forests in the Balkan peninsula. *Poplar/Topola* 210, 41-64.
171. Tatoj A.; Mozdzen K.; Barabasz-Krasny B.; SołTys-Lelek A.; Gruszka W.; Zandi P. (2022). Effect of *Rosa gorenkensis* Besser aqueous extracts on germination and early growth of native plant species. *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca* 50, 12668.
172. Taylor R. (1990). Interpretation of the correlation coefficient: A basic review. *J. Diagn. Med. Sonogr.* 6, 35-39.
173. Ter Braak C.J.; Verdonschot P.F. (1995). Canonical correspondence analysis and related multivariate methods in aquatic ecology. *Aquat. Sci.* 57, 255-289.
174. Teshome D.T.; Zharare G.E.; Naidoo S. (2020). The threat of the combined effect of biotic and abiotic stress factors in forestry under a changing climate. *Front. Plant Sci.* 11, 1874.
175. Thompson I.; Mackey B.; McNulty S.; Mosseler A. (2009). Forest resilience, biodiversity, and climate change. In *A Synthesis of the Biodiversity/Resilience/Stability Relationship in Forest Ecosystems; Technical Series; Secretariat of the Convention on Biological Diversity: Montreal, QC, Canada.* pp. 1-67.

176. Tóth EG, Vendramin GG, Bagnoli F, Cseke K, Höhn M (2017). High genetic diversity and distinct origin of recently fragmented Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) populations along the Carpathians and the Pannonian Basin. *Tree Genet Genomes* 13: 47.
177. Truta A.M.; Viman O.; Dohotar V.D.; Sîngeorzan S.; Truta P.; Holonec L. (2020). The Influence of certain types of substrate and biochemical substances in seed germination and plant development of spruce (*Picea abies*). *Bull UASVM Cluj-Napoca Hortic.* 77, 128-135.
178. Tylkowski T.; Grupa, R. (2010). Skuteczność przedsięwziętych metod skaryfikacji nasion robinii akacjowej. *Sylvan* 154, 33-40.
179. Usberti R.; Martins L. (2007). Sulphuric acid scarification effects on *Brachiaria brizantha*, *B. humidicola* and *Panicum maximum* seed dormancy release. *Rev. Bras Sementes* 29, 143-147.
180. Vanclay JK (1992). Sustainable timber harvesting: simulation studies in the tropical rainforests of north Queensland. *For Ecol Manag* 69: 299-320.
181. Vilcan A., Tăut I., Holonec L., Mihalte L., Sestras R.E. (2013). The variability of different larch provenances on the response to the attack of the main pests and fungal diseases. *Trees Structure and Function.* 27(3): 697-705.
182. Vilcan A, Mihalte L, Sestras AF, Holonec L, Sestras RE (2017). Genetic variation and potential genetic resources of several Romanian larch populations. *Turk J Agric For* 41: 82-91.
183. Vítková M.; Müllerová J.; Sádlo J.; Pergl J.; Pyšek P. (2017). Black locust (*Robinia pseudoacacia*) beloved and despised: A story of an invasive tree in Central Europe. *For. Ecol. Manag.* 384, 287-302.
184. Wagner S, Gerber S, Petit RJ (2012). Two highly informative dinucleotide SSR multiplexes for the conifer *Larix decidua* (European larch). *Mol Ecol Resour* 12: 717-725.
185. Wagner H.H. (2004). Direct multi-scale ordination with canonical correspondence analysis. *Ecology* 85, 342-351.
186. Wang S, J. Wen Z. Yang and F. Ma (2006). Effects site conditions on industrial fiber plantations of *Larix olgensis*. *Journal of Forestry Research* 17(3):255-258.
187. Wang W.J.; He H.S.; Thompson F.R.; Fraser J.S.; Diak W.D. (2017). Changes in forest biomass and tree species distribution under climate change in the northeastern United States. *Landsc. Ecol.* 32, 1399-1413.
188. Waring KM, O'Hara KL (2005). Silvicultural strategies in forest ecosystems affected by introduced pests. *Forest Ecol Manag* 209:27-41.

189. Wenfang L, H. S. He R. Bu L. Dai Y. Hu and X. Wang (2008). Predicting the distributions of suitable habitat for three larch species under climate warming in Northeastern China. *Forest Ecology and Management* 254 (3): 420-428.
190. Wessa P. Free Statistics Software, Office for Research Development and Education, Version 1.2.1. (2022). Available online: <https://www.wessa.net/> (accessed on 9 March 2022).
191. Williams J.G.K., A.R. Kubelik K.J. Livak J.A. Rafalski S.V. Tingey (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers; *Nucleic Acids Research*, 18: 6531-6535.
192. Wright S (1965). The interpretation of population structure by Fstatistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19:395-420.
193. Xu Y.; Cai N.; He B.; Zhang R.; Zhao W.; Mao, J.; Duan A.; Li Y.; Woeste K. (2016). Germination and early seedling growth of *Pinus densata* Mast. provenances. *J. For. Res.* 27, 283-294.
194. Young AG, Boyle TJB (2000). *Forest Conservation Genetics: Principles and Practice*. Canberra, Australia: CSIRO Publishing.
195. Yuan H.; Hu B.; Liu Z.; Sun H.; Zhou M.; Rennenberg H. (2022). Physiological responses of black locust-rhizobia symbiosis to water stress. *Physiol. Plant* 174, e13641.
196. Zhang L, Zhang HG, Li XF (2013). Analysis of genetic diversity in *Larix gmelinii* (Pinaceae) with RAPD and ISSR markers. *Genet Mol Res* 12: 196-207.
197. Zhang H.; Liu Z.; Chen H.; Tang M. (2016). Symbiosis of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and *Robinia pseudoacacia* L. Improves Root Tensile Strength and Soil Aggregate Stability. *PLoS ONE* 11, e0153378.
198. Zhao G, Felber F, Kupfer P (2000). Genetic variation and differentiation of *Larix decidua* populations in Swiss Alps. *Acta Bot Sin* 43: 731-735.