



MINISTERUL EDUCAȚIEI, CERCETĂRII ȘI TINERETULUI  
UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ  
"Ion Ionescu de la Brad"

Aleea M. Sadoveanu nr. 3, 700490 – IAȘI, ROMANIA

Tel. +40-232-213069/260650 Fax. +40-232-260650

Cod fiscal: 4541840

E-mail: [rectorat@univagro-iasi.ro](mailto:rectorat@univagro-iasi.ro), <http://www.univagro-iasi.ro>

**RAPORTUL ȘTIINTIFIC ȘI TEHNIC IN EXTENSO  
(RST)**

**Contractul de finanțare nr. 52151/01.10.2008**

Titlul proiectului: *CERCETĂRI GENETICE ȘI BIOCHIMICE PRIVIND  
PROCESUL DE AMELIORARE A SORTIMENTULUI ÎN VEDEREA  
CREȘTERII AGROPRODUCTIVITĂȚII ȘI CALITĂȚII LA CIREȘ*

**ETAPA DE EXECUȚIE II/2009**

*CU TITLUL: STUDIAREA ȘI ANALIZAREA MATERIALULUI POMOLOGIC ȘI A  
HIBRIZILOR H.C. 840808, H.C. 840933, H.C. 871616, H.C. 893705 DIN PUNCT DE  
VEDERE GENETIC ȘI BIOCHIMIC ÎN VEDEREA EVIDENȚIERII CARACTERELOR  
VALOROASE*

***Cuprins***

---

Obiectivele generale și specifice ale proiectului.....	2
Obiectivele și activitățile etapei de execuție II/2009 (01.03.2009 - 10.12.2009).....	2
Rezumatul etapei de execuție.....	3
Descrierea științifică și tehnică.....	5
Obiectivul I. Menținerea stării biologice și culturale a materialului pomologic.....	5
Obiectivul II. Caracterizarea genetică a materialului pomologic și a hibrizilor H.C.840808, H.C. 840933, H.C. 871616, H.C. 893705.....	13
Obiectivul III. Caracterizarea biochimică a materialului pomologic și a hibrizilor H.C.840808, H.C. 840933, H.C. 871616, H.C. 893705.....	22
Concluzii.....	49
Bibliografie.....	51

---

## ***Obiectivele generale și specifice ale proiectului***

*Obiectivele generale prevăzute în cadrul proiectului:*

- evidențierea și selectarea genelor valoroase, de importanță economică la cireș, prin tehnici moderne, și transmiterea acestora la cultivare noi de cireș.
- producerea de material săditor agroproductiv și calitativ superior și lansarea pe piață a celor mai valoroase cultivare.

*Obiectivele specifice sunt următoarele:*

**I.** Inventarierea fondurilor de germoplasmă ale U.S.A.M.V. Iasi, S.C.D.P., Iasi și I.C.D.P., Pitesti-Mărăcineni și selectarea celor mai adecvate genotipuri de cireș din punct de vedere al adaptabilității, rezistenței la principalii agenți patogeni, calității, etc., pentru utilizarea lor în procesul de ameliorare.

**II.** Studiarea și analizarea materialului pomologic și a hibrizilor H.C. 840808, H.C. 840933, H.C. 871616, H.C. 893705 din punct de vedere genetic și biochimic în vederea evidențierii caracterelor valoroase.

**III.** Realizarea de noi combinații hibride care să includă mai multe gene valoroase de la diferite genotipuri de cireș.

**IV.** Analizarea și caracterizarea genetică și biochimică a hibrizilor noi creați, selectarea celor mai bune combinații din punct de vedere al calității, productivității și comportării în procesul de altoire și diseminarea rezultatelor.

## ***Obiectivele și activitățile etapei de execuție II/2009 (01.03.2009 - 10.12.2009)***

**Obiectivul I.** Menținerea stării biologice și culturale a materialului pomologic

*Activitatea I.1.* Efectuarea lucrărilor de menținere a stării biologice și culturale a materialului pomologic selectat

*Activitatea I.2.* Monitorizarea stării fitosanitare a materialului pomologic

**Obiectivul II.** Caracterizarea genetică a materialului pomologic și a hibrizilor H.C. 840808, H.C. 840933, H.C. 871616, H.C. 893705.

*Activitatea II.1.* Caracterizarea genetică a soiurilor și hibrizilor de cireș luați în studiu.

*Activitatea II.2.* Extragerea și putificarea ADN în vederea cuantificării și amplificării genice prin polimerizare în lanț (PCR).

*Activitatea II.3.* Caracterizarea complementelor cromozomiale diploide a soiurilor și hibrizilor luate în studiu.

*Activitatea II.4.* Evidențierea diferențelor genice între soiuri prin metode RAPD și AFLP.

*Activitatea II.5.* Secvențierea și caracterizarea genelor responsabile de exprimarea și fenotipizarea caracterelor urmărite.

*Activitatea II.6.* Determinarea gradului de expresie a genelor studiate cu evidențierea structurală a cauzelor variabilității acestui parametru.

**Obiectivul III.** Caracterizarea biochimică a materialului pomologic și a hibrizilor H.C. 840808, H.C. 840933, H.C. 871616, H.C. 893705.

*Activitatea III.1.* Dozarea cantității de clorofilă din frunze.

*Activitatea III.2.* Dozarea cantității de zaharuri din fructe și frunze.

*Activitatea III.3.* Determinarea indicelui polifenolic și a conținutului total de polifenoli la fructe și frunze.

*Activitatea III.4.* Dozarea cantității de vitamine și minerale la fructe și frunze.

*Activitatea III.5.* Determinarea acidității fructelor și frunzelor.

## REZUMATUL ETAPEI DE EXECUȚIE

În cadrul acestei etape de execuție (II/2009) a respectivului proiect au fost prevăzute 3 obiective și anume: I - Menținerea stării biologice și culturale a materialului pomologic; II - Caracterizarea genetică a materialului pomologic și a hibrizilor *H.C. 840808*, *H.C. 840933*, *H.C. 871616*, *H.C. 893705* și III - Caracterizarea biochimică a materialului pomologic și a hibrizilor *H.C. 840808*, *H.C. 840933*, *H.C. 871616*, *H.C. 893705*.

În cadrul obiectivului I de menținere a stării biologice și culturale a materialului pomologic au fost îndeplinite două activități. Prima activitate de efectuare a lucrărilor de menținere a stării biologice și culturale a materialului pomologic selectat a fost îndeplinită de către partenerii 2 și 3 ai consorțiului (Partenerul 2. Stațiunea de Cercetare – Dezvoltare pentru Pomicultură Iași și Partenerul 3. Institutul de Cercetare – Dezvoltare pentru Pomicultură Pitești - Mărăcineni). În cadrul lucrărilor de menținere au fost efectuate lucrările curente de întreținere conform fișelor tehnologice de cultură, respectiv tăieri de întreținere a pomilor, ierbicidare pe rândul de pomi, tratamente fitosanitare făcute la avertizare cu insectofungicidele prevăzute în buletinul emis de laboratorul de protecție, cosiri mecanice ale ierbii pe interval, recoltat de probe și analiza acestora, etc. A doua activitate de monitorizare a stării fitosanitare a materialului pomologic a fost realizată tot de către partenerii 2 și 3 ai consorțiului. Însă condițiile climatice ale anului 2009 au fost puțin favorabile manifestării bolilor specifice cireșului. Lipsa unor precipitații frecvente și temperaturile constant mari, înregistrate în lunile aprilie și mai comparativ cu mediile multianuale au făcut ca monilioza să nu apară în primăvară (pe inflorescențe și lăstari) și nici pe fructe pe parcursul derulării perioadei de maturare a acestora. Cocomicoza, pe fondul unei infecții primare de mică intensitate, s-a instalat târziu pe frunziș, cu o frecvență și intensitate mult redusă comparativ cu anii precedenți, în mod gradual, în cursul lunilor iulie și mai ales în august. Per ansamblu, în condiții de protecție fitosanitară diminuată, corespunzător gradului de atac înregistrat, frunzișul pomilor s-a păstrat în bune condiții de sănătate până în luna septembrie. Determinarea susceptibilității soiurilor și a selecțiilor de cireș la *Blumeriella jaapii* s-a făcut etapizat, în lunile iulie și august.

Activitățile obiectivului II ce constau în caracterizarea genetică a materialului pomologic și a hibrizilor *H.C. 840808*, *H.C. 840933*, *H.C. 871616*, *H.C. 893705* au fost realizate de către partenerul 1 (Universitatea „Al. I. Cuza” Iași) al consorțiului de cercetare.

Izolarea și purificarea ADN s-a realizat prin testarea unui kit SV DNA Extraction (Promega) și a unor reactivi precum PVPP pentru a îndepărta compușii polifenolici,  $\beta$ -mercaptoetanol utilizat pentru a cliva legăturile bisulfidice, cloroform pentru a solubiliza proteinele și lipidele, sare pentru a neutraliza sarcina electrică negativă a ADN-ului, izopropanol pentru a precipita ADN-ul, etanol pentru a precipita și spăla ADN total. De asemenea, a fost folosit și protocolul SDS-acetat de potasiu, SDS fiind folosit pentru a denatura proteinele și membrana celulară, iar acetatul de potasiu pentru a elimina resturile celulare. În total au fost obținute 14 probe diferite între ele

Obiectivul III ce a avut ca temă de cercetare caracterizarea biochimică a materialului pomologic și a hibrizilor *H.C. 840808*, *H.C. 840933*, *H.C. 871616*, *H.C. 893705* a fost

realizat în cadrul Centrului de Cercetari Horticole al instituției coordonatoare Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară Iași.

În cadrul activității III.1. a fost dozată cantitatea de clorofilă din frunze. În urma analizelor întreprinse au fost constatate valori ale cantităților de pigmenți asimilatori cuprinse între  $3,179 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (S.U.) pentru clorofila *a*,  $0,901 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (S.U.) pentru clorofila *b* și  $1,142 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (S.U.) pigmenți la soiul Germersdorf și  $5,469 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (S.U.) clorofilă *a*,  $2,894 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (S.U.) clorofilă *b*,  $2,040 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (S.U.) pigmenții carotenoidici la soiul Van.

Activitatea III.2. se referă la dozarea cantității de zaharuri din fructe și frunze. Rezultatele analizelor efectuate la soiurile și hibridii de cireș au scos în evidență diferențe atât ale valorilor conținutului de glucide solubile prezente în fructele și fructele soiurilor și hibridilor de cireș luați în studiu cât și un indice diferit al raportului glucidelor solubile din fructe/glucide solubile din frunze. Deasemenea, am constatat diferențe destul de evidente ale conținutului de substanță uscată solubilă din sucule fructelor acestor soiuri și hibridi.

Prin activitatea III.3. s-a realizat determinarea indicelui polifenolic și a conținutului total de polifenoli la fructe și frunze. Conform analizelor noastre cel mai scăzut conținut de polifenoli a fost înregistrat la hibridul de cireș H.C. 871616 care a fost de  $0.27\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  având un indice de 0.3 (Indicele reprezintă raportul dintre compușii fenolici totali din fructele și frunzele de cireș. Acesta ne arată cât din compușii analizați se regăsesc în produsul de interes, adică în fructe față frunze, organul în care are loc sinteza majorității compușilor macromoleculari, printre care și a compușilor fenolici). La polul opus, cu cel mai mare conținut de compuși polifenolici în sucule fructe, se află soiul Rivan cu  $1.01\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  și un indice de acumulare în fructe comparativ cu frunzele de 0.9.

Activitatea III.4. Dozarea cantității de vitamine și minerale din fructe și frunze. Dintre vitamine am ales să dozăm conținutul de vitamină C cunoscând-se rolul important al acesteia în menținerea stării generale de sănătate a omului. Rezultatele obținute de noi privind conținutul de vitamină C din fructele și frunzele soiurilor și hibridilor de cireș au scos în evidență valori semnificative ale conținutului acestei vitamine atât în pulpa fructelor mature proaspete, cât și în frunzele pomilor din perioada recoltării fructelor.

Analiza rezultatelor de laborator referitoare la conținutul total de azot, scoate în evidență diferențe semnificative în ceea ce privește conținutul de azot din frunzele și fructele soiurilor și hibridilor de cireș luați în studiu.

În cazul conținutului total de minerale (cenușa brută) din frunze, variațiile sunt de maxim 2.19 ori între conținutul cel mai ridicat, înregistrat la soiul Van (26.55% din S.U.) și conținutul cel mai redus (12.12% din S.U.) înregistrat la soiul Bucium. În schimb, la fructe valorile se dispersează pe un domeniu mult mai larg.

Activitatea III.5. Determinarea acidității fructelor și frunzelor. Diferențele dintre valorile acidității titrabile (indirect ale pH) la fructele și frunzele soiurilor și hibridilor de cireș pot fi explicate prin diferențele genotipice dintre soiuri în funcție de condițiile mediului înconjurător. Majoritatea cercetătorilor susțin că diferențele dintre valorile acidității titrabile la cireșe sunt determinate mai mult de genotip decât de condițiile ecologice și procedeele de cultură aplicate care erau aplicate unifrm.

## DESCRIEREA ȘTIINȚIFICĂ ȘI TEHNICĂ

### **Obiectivul I. *Menținerea stării biologice și culturale a materialului pomologic***

#### **Partenerul 2. Stațiunea de Cercetare – Dezvoltare pentru Pomicultură Iași**

##### **Activitatea I.1. Efectuarea lucrărilor de menținere a stării biologice și culturale a materialului pomologic selectat**

Pe parcursul acestei etape s-a urmărit materialul biologic luat în studiu și anume: soiurile de cireș (*Prunus avium* L.) Van, Stella, Maria, Bucium, Rivan, George, Golia, New Star, Boambe de Cotnari și Germersdorf și elitele hibride luate în studiu: HC 840808, HC 840933, HC 871616, HC 893705 în condițiile pedoclimatice specifice zonei.

Material biologic provine din sursa proprie de germoplasmă din colecția națională de cireș cu 555 de genotipuri, câmpul de selecție al hibridilor și microculturile de concurs cu soiuri și elite hibride de cireș aflate în poligonul experimental al SCDP Iași.

Pomii din colecția națională și din microculturile de concurs sunt plantați la distanța de 5 x 4 m, revenind un număr de 500 pomi la hectar, iar în câmpurile de selecție la 5 x 2 m, revenind un număr de 1000 pomi la hectar. Toate plantațiile se află amplasate pe un teren cu o ușoară înclinare de la NV către SE, cu o pantă medie de 5 %, altitudinea fiind de 165 m.

Solul este un cernoziom levigat, slab erodat, pe depozite loessoide și luturi, cu textură lutoasă și luto-nisipoasă, cu pH 5,8 – 6,8; indicele azot 2,37 – 2,54; fosforul mobil 20-82 P (ppm); potasiul mobil 186-360 K (ppm).

Din punct de vedere climatic, anul agricol 2008-2009, a fost foarte secetos înregistrându-se în lunile ianuarie – octombrie numai 365.8 l precipitații /m.p, cu o repartizare defectuoasă și total insuficientă. Seceta s-a resimțit acut mai ales în lunile iulie, august și

septembrie când cireșul a avut foarte mult de suferit producând uscarea totală sau parțială a unor pomi. Cu siguranță seceta a influențat decisiv și diferențierea mugurilor de rod cu diminuarea producției anului viitor.

Anul nu a creat probleme din punct de vedere al temperaturilor scăzute, cea mai mică valoare înregistrându-se pe 01.01.2009 (-12,5°C). În lunile martie-aprilie s-au înregistrat unele temperaturi sub 0°C (23 aprilie), dar care nu au provocat pagube la muguri, flori sau fructe. Primul îngheț s-a înregistrat pe 31 octombrie (-2,2°C).

S-au efectuat observații și determinări privind vigoarea pomilor (suprafața secțiunii trunchiului, cm<sup>2</sup>), principalele fenofaze de fructificare (începutul umflării mugurilor, începutul dez muguritului, începutul înfloritului, sfârșitul înfloritului, data maturării fructelor, data căderii frunzelor) comportarea față de factorii limitativi ai producției (ger, secetă, bolile specifice cireșului), producția de fructe și principalele însușiri fizico-chimice ale fructelor. La hibridările din acest an s-au folosit opt genotipuri de cireș, din care s-au realizat patru combinații hibride, polenizându-se 3254 flori.

Hibridii obținuți până în prezent se găsesc sub formă de combinații hibride sau individualizați în câmpurile de selecție a hibridilor.

Tabelul nr. 1

## Parcursul fenofazelor de fructificare la soiurile și elitele hibride de cireș studiate (2009)

<i>Soiul</i>	<i>Începutul umflării mugurilor</i>	<i>Începutul dez muguritului</i>	<i>Începutul înfloritului</i>	<i>Sfârșitul înfloritului</i>	<i>Durata înfloritului (zile)</i>
<b>Boambe de Cotnari</b>	14.03	4.04	15.04	25.04	11
<b>Germersdorf</b>	15.03	5.03	16.04	30.04	15
<b>Stella</b>	13.03	6.04	16.04	29.04	14
<b>Van</b>	11.03	5.04	15.04	26.04	12
<b>Rivan</b>	12.03	4.04	14.04	24.04	11
<b>Maria</b>	14.03	12.04	14.04	24.04	11
<b>Golia</b>	16.03	6.04	15.04	25.04	11
<b>Bucium</b>	15.03	6.04	16.04	28.04	13
<b>New Star</b>	14.03	6.04	15.04	29.04	15
<b>George</b>	15.03	7.04	16.04	25.04	10
<b>HC 840808</b>	14.03	7.04	16.04	30.04	15
<b>HC 840933</b>	14.03	7.04	16.04	30.04	15
<b>HC 871616</b>	14.03	7.04	18.04	30.04	13
<b>HC 893705</b>	14.03	8.04	16.04	30.04	15

Date privind principalele fenofaze de fructificare (începutul umflării mugurilor, începutul dez muguritului, începutul înfloritului, sfârșitul înfloritului precum și durata înfloritului au fost înscrise în tabelul 1. Cea mai mică durată a înfloritului s-a înregistrat la soiul George (10 zile), iar cea mai mare perioadă s-a înregistrat la soiurile Germersdorf, New Star și elitele HC 840808, HC 840933 și HC 893735.

În ceea ce privește vigoarea pomilor la soiurile și elitele hibride, s-a înregistrat cea mai mare creștere a suprafeței secțiunii trunchiului la soiul New Star cu 36 cm<sup>2</sup> (tabelul 2).

Maturarea fructelor a avut loc în perioada 1.06 (Rivan) - 15.07 (George). Cea mai lungă perioadă de vegetație (de la începutul umflării mugurilor până la data căderii frunzelor) a fost înregistrată la soiurile Stella și Van, cu 248 de zile (tabelul 3).

Tabelul nr. 2

Date privind vigoarea și creșterea pomilor la soiurile și elitele hibride de cireș studiate (2009)

Soiul	Suprafața secțiunii trunchiului (cm <sup>2</sup> )			Numărul creșterilor anuale (2009)	Lungimea creșterilor anuale (2009) cm
	2008	2009	creșterea anuală		
Boambe de Cotnari	242	253	11	273	23.8
Germersdorf	431	463	32	-	-
Bucium	300.6	310.2	9.6	200	33.6
Stella	425.6	433	7.4	-	-
Van	391	413	22	-	-
Rivan	399	422	23	-	-
New Star	352	388	36	-	-
George	285.0	298	13	149	22.0
Golia	293.0	315	22	44	24.7
Maria	338.2	344	2.8	71	60.3
HC 840808	135.8	163	27.2	262	58.6
HC 840933	154.1	183	28.9	238	73
HC 871616	116.5	152	35.5	247	52.1
HC 893705	94.4	118	23.6	227	55.7

Tabelul nr. 3

Date privind starea de vegetație la soiurile și elitele hibride de cireș studiate (2009)

Soiul	Data maturării fructelor	Data căderii frunzelor	Perioada de vegetație (zile)
Maria	12.06	15.11	246
Golia	18.06	15.11	245
Bucium	16.06	14.11	245
Boambe de Cotnari	23.06	13.11	245
Germersdorf	22.06	13.11	244
Stella	14.06	15.11	248
Van	15.06	13.11	248
Rivan	01.06	12.11	246
George	15.07	13.11	244
New Star	15.06	14.11	246
HC 840808	25.06	13.11	245
HC 840933	19.06	13.11	245
HC 871616	24.06	14.11	246
HC 893705	19.06	13.11	245

## Activitatea I.2. Monitorizarea stării fitosanitare a materialului pomologic

Condițiile climatice ale anului 2009 nu au favorizat apariția cu frecvență mare a principalelor boli specifice culturii cireșului: *Monilia laxa* (monilioza), *Monilia frutigena* (monilioza fructelor), *Coccomyces hiemalis* (antracnoza).

Combaterea bolilor și dăunătorilor s-a făcut la avertizările primite (tabelul 4), iar tehnologia de cultură a fost cea specifică culturii cireșului. În cursul experimentării, solul



dintre rândurile de pomi a fost întreținut înierbat, efectuându-se trei lucrări de tocare a masei vegetative care a rămas pe interval. Pe rândul de pomi s-au efectuat trei lucrări cu discul lateral cu palpator.

Tăierile la pomi s-au efectuat în uscat, în perioada de vegetație intervenindu-se doar pentru eliminarea unor uscături sau ramuri rupte.

Tabelul nr. 4

## Combaterea bolilor și dăunătorilor la soiurile și elitele hibride studiate (2009)

Nr. tratamentelor	Data efectuării tratamentelor	Produse folosite	Concentrația (%)
I	9.04	- Kocide	0,2
II	27.04	- Folicur Solo - Decis 25 WG - Îngrășământ foliar	0,075 0,003 0,2
III	21.05	- Folicur Solo - Calipso - Îngrășământ foliar	0,075 0,003 0,2
IV	17.06	- Folicur Solo - Decis 25 WG - Îngrășământ foliar	0,075 0,003 0,2

Tabelul nr. 5

## Date privind starea fitosanitară la unele soiuri de cireș la SCDP Iași (2009)

Soiul	Rezistența la	
	Antracnoză	Monilioză
<b>Maria</b>	medie	medie
<b>Golia</b>	medie	medie
<b>Bucium</b>	medie	medie
<b>Boambe de Cotnari</b>	medie	medie
<b>Germersdorf</b>	medie	bună
<b>Stella</b>	medie	medie
<b>Van</b>	medie	medie
<b>Rivan</b>	medie	bună
<b>George</b>	medie	bună
<b>New star</b>	medie	medie
<b>HC. 840808</b>	medie	medie
<b>Hc 840933</b>	medie	medie
<b>Hc 871616</b>	buna	buna
<b>Hc 893705</b>	buna	buna



### **Partenerul 3. Institutul de Cercetare – Dezvoltare pentru Pomicultură Pitești - Mărăcineni**

#### **Activitatea I.1. Efectuarea lucrărilor de menținere a stării biologice și culturale a materialului pomologic selectat**

La toate cele 12 soiuri care fac obiectul studiului, fiecare reprezentate de câte 10 pomi, în cadrul colecției de genotipuri ale speciei *Prunus avium* L., au fost efectuate lucrările curente de întreținere conform fișei tehnologice de cultură, respectiv tăieri de întreținere a pomilor, ierbicidare pe rândul de pomi, 7 tratamente fitosanitare făcute la avertizare cu insectofungicidele prevăzute în buletinul emis de laboratorul de protecție, 3 cosiri mecanice ale ierbii pe interval, recoltat de probe și analiza acestora, etc.

#### **Activitatea I.2. Monitorizarea stării fitosanitare a materialului pomologic**

În general, condițiile climatice ale anului 2009 au fost puțin favorabile manifestării bolilor specifice cireșului. Lipsa unor precipitații frecvente și temperaturile constant mari, înregistrate în luna aprilie și mai (Fig.1) comparativ cu mediile multianuale (Fig.2) au făcut ca monilioza să nu apară în primăvară (pe inflorescențe și lăstari) și nici pe fructe pe parcursul derulării perioadei de maturare a acestora.

Cocomicoza, pe fondul unei infecții primare de mică intensitate, s-a instalat târziu pe frunziș, cu o frecvență și intensitate mult redusă comparativ cu anii precedenți, în mod gradual, în cursul lunilor iulie și mai ales în august. Pe ansamblu, în condiții de protecție fitosanitară diminuată, corespunzător gradului de atac înregistrat, frunzișul pomilor s-a păstrat în bune condiții de sănătate până în luna septembrie.

Determinarea susceptibilității soiurilor și a selecțiilor de cireș la *Blumeriella jaapii* s-a făcut etapizat, în lunile iulie și august.

Metodologic, s-a procedat la determinarea frecvenței, intensității și gradului de atac, astfel:

Frecvența atacului (F%) este valoarea relativă a numărului de plante sau organe ale plantei atacate (n) raportate la numărul de plante sau organe observate (N). Valoarea frecvenței se realizează prin observații direct asupra unui număr de 200 – 300 frunze, fructe sau lăstari (funcție de organul frecvent atacat de boală sau dăunătorul studiat).

$$F\% = (n \times 100)/N$$

Pentru exprimarea treptelor intermediare care există între rezistența maximă și sensibilitatea maximă este necesar să se noteze intensitatea atacului (I%) prin care se arată gradul de acoperire a organelor atacate de către agentul patogen sau variația extinderii atacului.

Drept criteriu comun unitar de apreciere a intensității atacului, se folosesc în mod convențional 6 clase ale intensității de atac, corespunzător unor anumite intervale de procente ale intensității atacului și anume:

Nota intensității atacului (în câmp)	Suprafața atacată în %
1	1-3%
2	4-10%
3	11-25%
4	26-50%
5	51-75%
6	76-100%

Intensitatea atacului se exprimă în procente față de numărul de plante sau organe ale plantei atacate (n), nu față de numărul celor observate, și este dată de relația:

$$I\% = \frac{\sum(i \times f)}{n}$$

i = % în care organul este atacat (corespondentul notei în %)

f = numărul de cazuri cu atac la fiecare procent (la fiecare notă)

n = numărul total de cazuri cu atac.

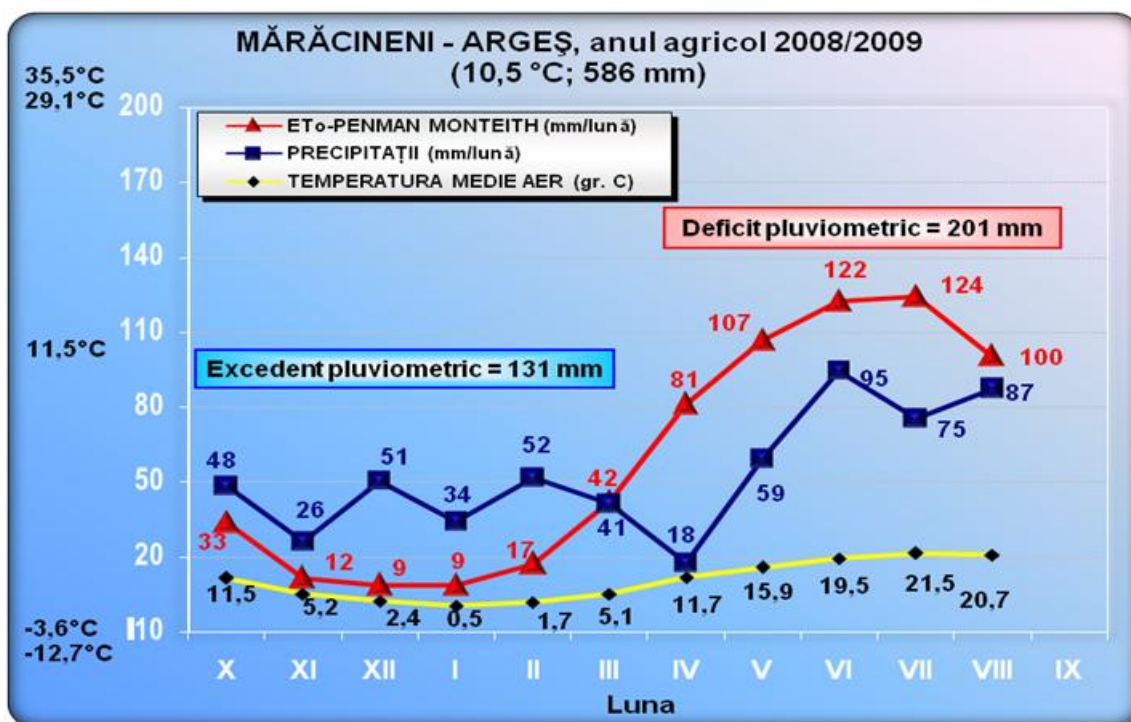


Figura 1. Climatograma anului agricol 2008/2009 pentru locația Mărăcineni, Argeș

Pentru a exprima și mai bine gradul de îmbolnăvire a plantelor sau dauna provocată în urma atacului agentului patogen, se calculează gradul de atac (GA) pentru atacul pe frunze sau gradul de dăunare (GD) pentru daunele aduse producției în urma atacului agentului patogen.

Expresia valorică a GA sau GD poate fi redată prin relația:

$$GA\% = \frac{F \times I}{100}$$

Determinarea frecvenței, intensității și a gradului de atac constituie criteriul cel mai potrivit pentru aprecierea rezistenței speciilor și soiurilor de pomi fructiferi la atacul bolilor. Soiurile urmărite în cadrul proiectului sunt evident mai puțin susceptibile comparativ cu multe dintre soiurile comerciale, remarcându-se prin frecvență, în mod deosebit, soiurile Sublim, Superb și Kristin. Toate soiurile au avut o intensitate a atacului cuprinsă între 4,5% și 8,5%, fiind încadrate în grupa 2 de sensibilitate. Gradul de îmbolnăvire a aparatului foliar a fost în general redus, fiind cuprins între 2,3% la soiul Sublim și 6,1% la soiul Altenburger. Pe ansamblu, valorile mai mari ale frecvenței atacului au fost anulate de valori mici ale intensității acestuia și invers, ceea ce face ca valorile calculate ale gradului de atac să fie diminuate corespunzător. (Buletin 1).

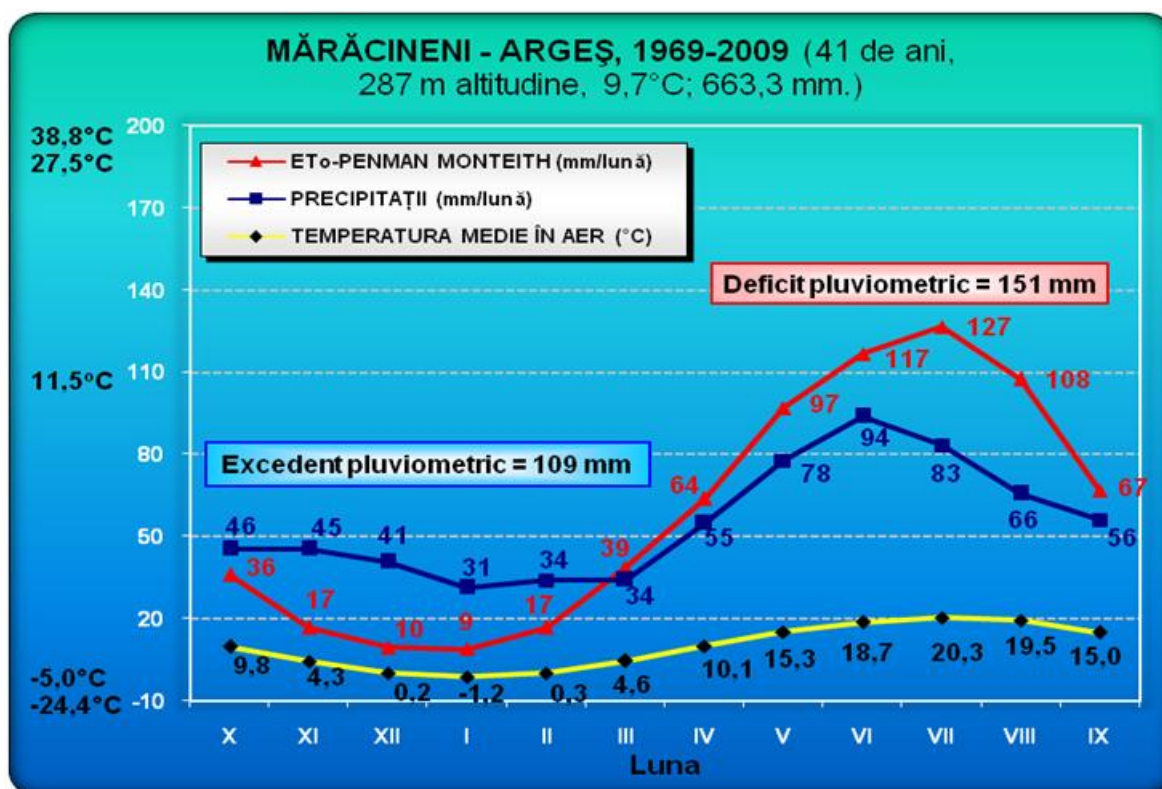


Figura 2. Climatograma multianuală pentru locația Mărăcineni, Argeș

## BULETIN DE ANALIZĂ

Nr. 1/2009

**Program:** PN-II PARTENERIATE

**Proiect:** "CERCETARI GENETICE SI BIOCHIMICE PRIVIND PROCESUL DE AMELIORARE A SORTIMENTULUI IN VEDEREA CRESTERII AGROPRODUCTIVITATII SI CALITATII LA CIRES"

**Contract nr.** 52-151/2008

**Etapa** II/2009

**Specie:** *Prunus avium* L. - CIRES

**Proveniența:** I.C.D.P. MĂRĂCINENI, Laboratorul de Genetică și Ameliorare

**Nr. probe:**128

**Ridicate:** din colecția de soiuri

**Rezultate:**

*Tabelul nr. 1.*

Susceptibilitatea la <i>Blumeriella jaapii</i>			
Soiul	Frecvența (%)	Intensitate (%)	Grad de atac
Tendant	80	4,5	3,6
Kristin	56	4,9	2,7
Decanka	89	4,6	4,1
Sublim	51	4,6	2,3
Summit	73	5,3	3,9
Altenburger	81	7,5	6,1
Daria	69	8,5	5,9
New Star	73	7,6	5,5
Viscount	72	4,9	3,5
Kordia	82	6	4,9
Superb	69	4,6	3,2
2D 28-31	80	5,3	4,2

Director științific,  
Dr.ing. Dorin Sumedrea  
(semnat)

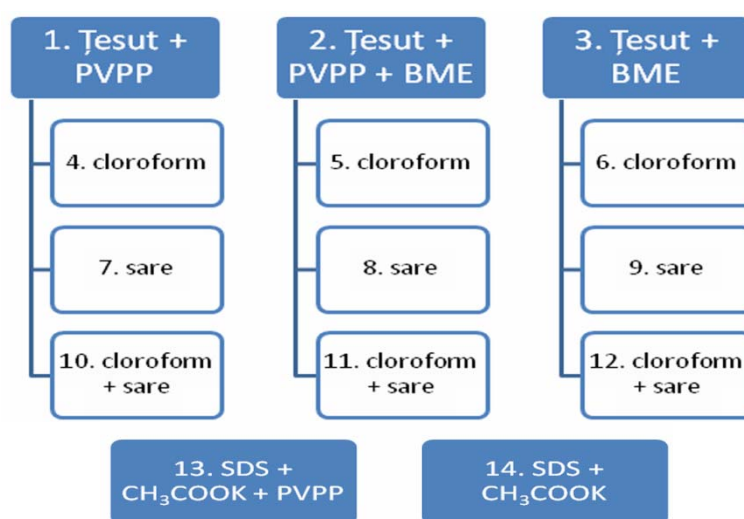
Responsabil proiect,  
Dr. ing. Sergiu Budan  
(semnat)

**Obiectivul II. Caracterizarea genetică a materialului pomologic și a hibrizilor  
H.C. 840808, H.C. 840933, H.C. 871616, H.C. 893705**

**Partenerul 1. Universitatea „Al. I. Cuza” Iași**

**Extracția și putificarea adn în vederea cuantificării și amplificării genice prin  
polimerizare în lanț (PCR)**

Izolarea și purificarea ADN s-a realizat prin testarea unui kit SV DNA Extraction (Promega) și a unor reactivi precum PVPP pentru a îndepărta compușii polifenolici,  $\beta$ -mercaptoetanol utilizat pentru a cliva legăturile bisulfidice, cloroform pentru a solubiliza proteinele și lipidele, sare pentru a neutraliza sarcina electrică negativă a ADN-ului, izopropanol pentru a precipita ADN-ul, etanol pentru a precipita și spăla ADN total. De asemenea, a fost folosit și protocolul SDS-acetat de potasiu, SDS fiind folosit pentru a denatura proteinele și membrana celulară, iar acetatul de potasiu pentru a elimina resturile celulare. În total au fost obținute 14 probe diferite între ele (Figura 1).



**Figura 1. Variantele de izolare și purificare ADN**

Din analiza spectrofotometrică (Tabelul nt. 1) s-au putut trage următoarele concluzii: cea mai mare cantitate de ADN a fost obținută prin metoda SDS-CH<sub>3</sub>COOK dar cu o cantitate foarte mare de impurități, lucru confirmat de analiza gelului. Rapoartele 260/280 și 260/230 indică gradul de contaminare cu proteine, respectiv fenoli și alți compuși organici. Cu cât aceste rapoarte sunt mai mari, cu atât este mai mare concentrația de ADN iar când aceste rapoarte depășesc valoarea de 1,6, se poate vorbi de puritate mare.

Tabelul nr. 1.

**Identificarea spectrofotometrică a concentrațiilor și a gradului de puritate a probelor pe variante de extracție**

Proba	Abs 260nm	Abs 280nm	Abs 230nm	260/280	260/230	Concentrația (ng/ul)	Tipul probei
05.10.09-1	3,855	2,85	10,951	1,35	0,35	192,7	dsDNA
05.10.09-2	3,371	2,415	7,707	1,4	0,44	168,5	dsDNA
05.10.09-3	2,425	1,704	5,219	1,42	0,46	121,2	dsDNA
05.10.09-4	3,461	2,516	8,739	1,38	0,4	173	dsDNA
05.10.09-5	4,7	3,402	11,444	1,38	0,41	235	dsDNA
05.10.09-6	1,264	0,993	3,592	1,27	0,35	63,1	dsDNA
06.10.09-1	0,469	0,424	1,902	1,11	0,25	23,4	dsDNA
06.10.09-2	0,524	0,495	2,115	1,06	0,25	26,2	dsDNA
06.10.09-3	0,302	0,403	1,344	0,75	0,22	15,1	dsDNA
06.10.09-4	0,51	0,498	2,518	1,02	0,2	25,4	dsDNA
06.10.09-5	0,936	0,931	3,385	1,01	0,28	46,7	dsDNA
06.10.09-6	0,642	0,664	2,435	0,97	0,26	32,1	dsDNA
07.10.09-1	0,634	0,651	1,992	0,97	0,32	31,7	dsDNA
07.10.09-2	0,305	0,248	0,937	1,23	0,33	15,2	dsDNA
07.10.09-3	0,067	0,045	0,178	1,49	0,38	3,3	dsDNA
07.10.09-4	1,132	1,18	4,603	0,96	0,25	56,6	dsDNA
07.10.09-5	0,998	1,354	4,131	0,74	0,24	49,9	dsDNA
07.10.09-6	0,64	0,636	2,26	1,01	0,28	31,9	dsDNA
1	0,653	0,436	0,669	1,5	0,98	32,6	dsDNA
2	8,722	11,605	16,283	0,75	0,54	436	dsDNA
3	2,65	1,699	4,079	1,56	0,65	132,5	dsDNA
4	1,145	0,677	0,914	1,69	1,25	57,2	dsDNA
5	0,77	0,483	0,804	1,59	0,96	38,4	dsDNA
6	1,193	0,758	1,63	1,57	0,73	59,6	dsDNA
7	0,339	0,279	0,701	1,22	0,48	16,9	dsDNA
8	1,966	1,395	4,861	1,41	0,4	98,3	dsDNA
9	3,026	2,059	5,87	1,47	0,52	151,2	dsDNA
10	0,107	0,095	0,092	1,13	1,16	5,3	dsDNA
11	0,47	0,261	0,413	1,8	1,14	23,4	dsDNA
12	0,616	0,399	0,892	1,54	0,69	30,7	dsDNA
13	23,041	10,649	10,034	2,16	2,3	1152	dsDNA
14	23,644	12,433	15,743	1,9	1,5	1182,2	dsDNA

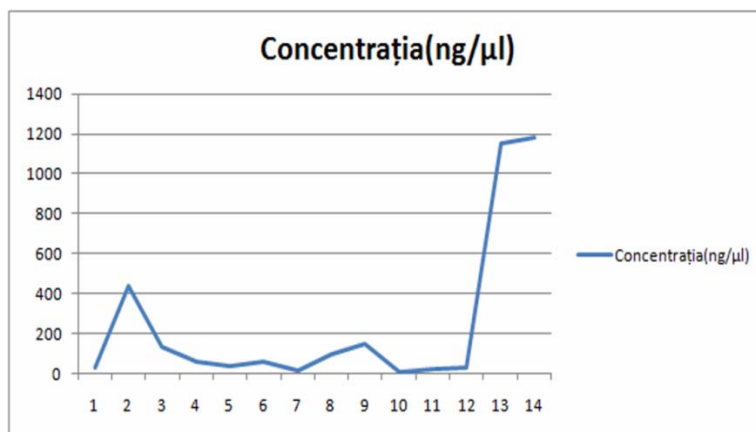
Tabelul nr. 2.

**Identificarea spectrofotometrică a concentrațiilor și a gradului de puritate a probelor pentru soiurile studiate**

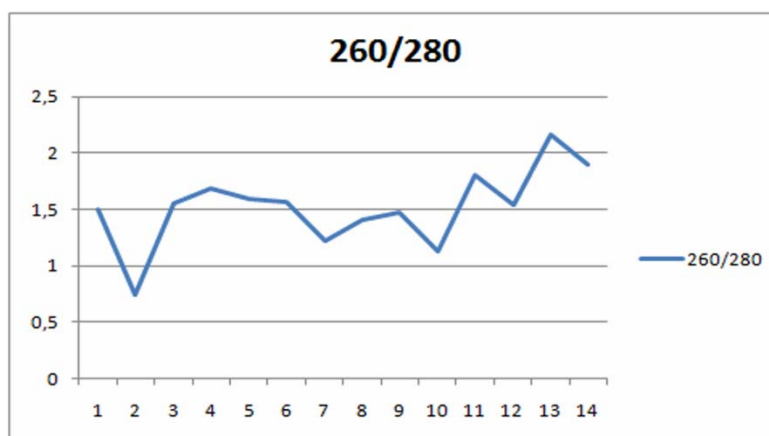
Proba	Abs 260nm	Abs 280nm	Abs 230nm	260/280	260/230	Concentrația (ng/ul)	Tipul probei
Maria	2,185	1,403	3,494	1,56	0,63	109,2	dsDNA
Golia	3,355	1,904	3,328	1,76	1,01	167,7	dsDNA
Rivan	4,187	2,73	7,041	1,53	0,59	209,3	dsDNA
New Star	1,952	1,582	3,993	1,23	0,49	97,5	dsDNA
HC871616	1,933	1,159	2,272	1,67	0,85	96,6	dsDNA
HC893705	1,082	0,723	1,622	1,5	0,67	54	dsDNA
HC840808	2,316	1,522	3,259	1,52	0,71	115,7	dsDNA
B Cotnari	3,672	2,225	4,964	1,65	0,74	183,5	dsDNA
Stella	2,375	1,788	4,24	1,33	0,56	118,7	dsDNA

Continuare la tabelul nr. 2

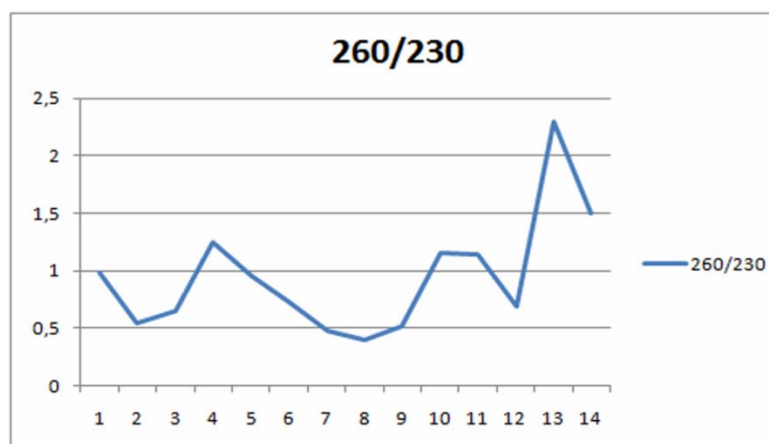
Proba	Abs 260nm	Abs 280nm	Abs 230nm	260/280	260/230	Concentrația (ng/ul)	Tipul probei
Van	2,613	1,892	4,469	1,38	0,58	130,6	dsDNA
George	2,79	2,013	5,407	1,39	0,52	139,4	dsDNA
HC840933	2,436	1,665	3,827	1,46	0,64	121,7	dsDNA



**Figura 2. Concentrația acizilor nucleici, în cele 14 variante de extracție (1 – 14 variantele de extracție)**



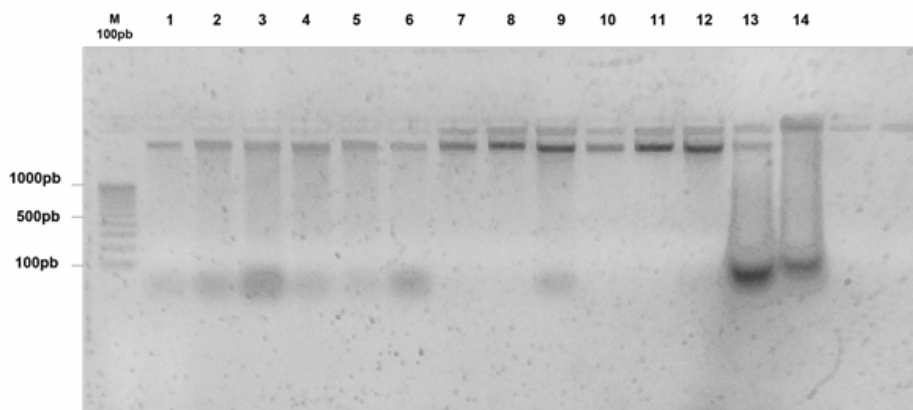
**Figura 3. Gradul de impurificare cu proteine (1 – 14 variantele de extracție)**



**Figura 4. Gradul de impurificare cu alți compuși organici (1 – 14 variantele de extracție)**



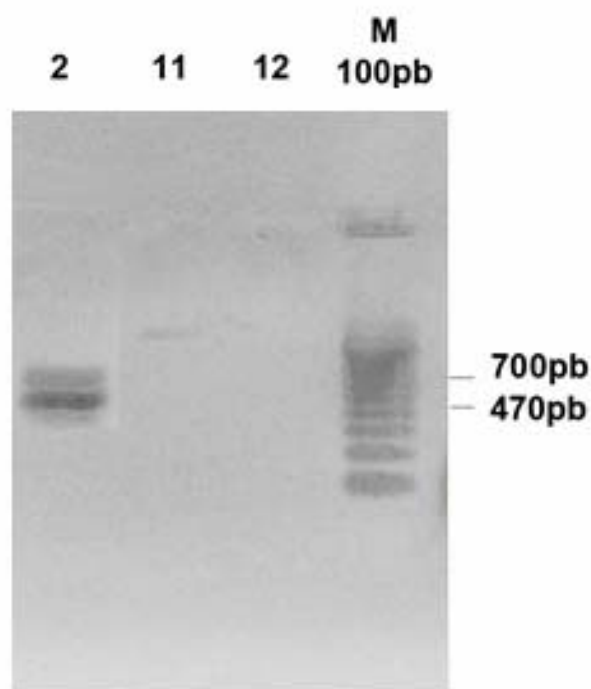
De asemenea, a fost efectuată o verificare electroforetică a produșilor de purificare, pentru a identifica metodele superioare din punct de veder calitativ și cantitativ (Figura 5), din care se observa cantitati foarte mari de ADN total pentru variantele 13 și 14, dar cu un grad mare de impurificare



*Figura 5. Electroforeza ADN total pentru variantele de extracție*

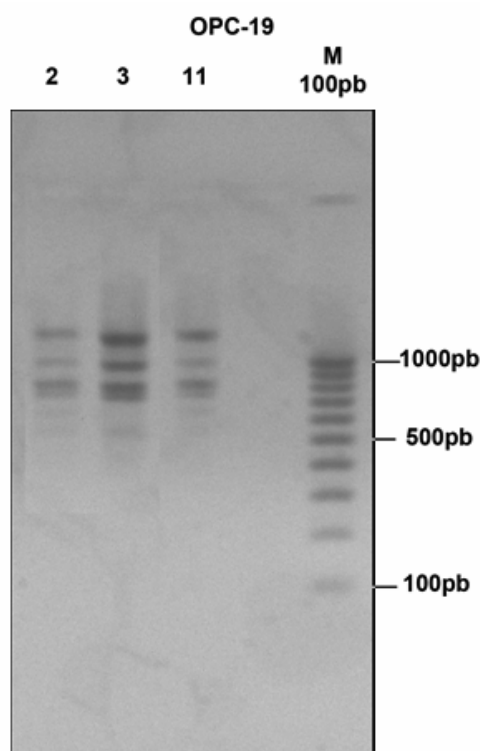
### **Evidențierea diferentelor genice între soiuri prin metode rapid și aflp**

Template-ul de ADN total, a fost utilizat pentru testarea variantelor de extracție și a 43 de primeri nespecifici, în scopul identificării acelor care permit diferențierea varietăților analizate. Din analiza amplificărilor prin RAPD, s-au obținut diferite patternuri de amplificare care permit identificarea soiurilor analizate.



*Figura 6. RAPD OPC17*

Din analiza electroforegramelor produșilor RAPD (Figurile 6 și 7), s-a constatat că cele mai bune variante de extracție a ADN total, au fost variantele 2, 3 și 12, deoarece au permis amplificarea și obținerea unor patternuri utile în caracterizarea soiurilor.



**Figura 7. RAPD OPC19**

Ulterior s-au testat cei 43 de primeri (Tabelul nr. 3), dintre care au fost selectați 12 pentru a fi utilizați în continuare în identificarea regiunilor de diferențiere ale soiurilor și hibridilor. Reacția de amplificare prin PCR, s-a realizat în volum de 25μl. Pentru amplificare s-a utilizat un kit Green MasterMix Promega.

Produșii RAPD au fost analizați prin electroforeză în gel de agaroză 1,5% iar captura și analiza imaginilor cu sistemul de fotodocumentare Digi Doc, UVP.

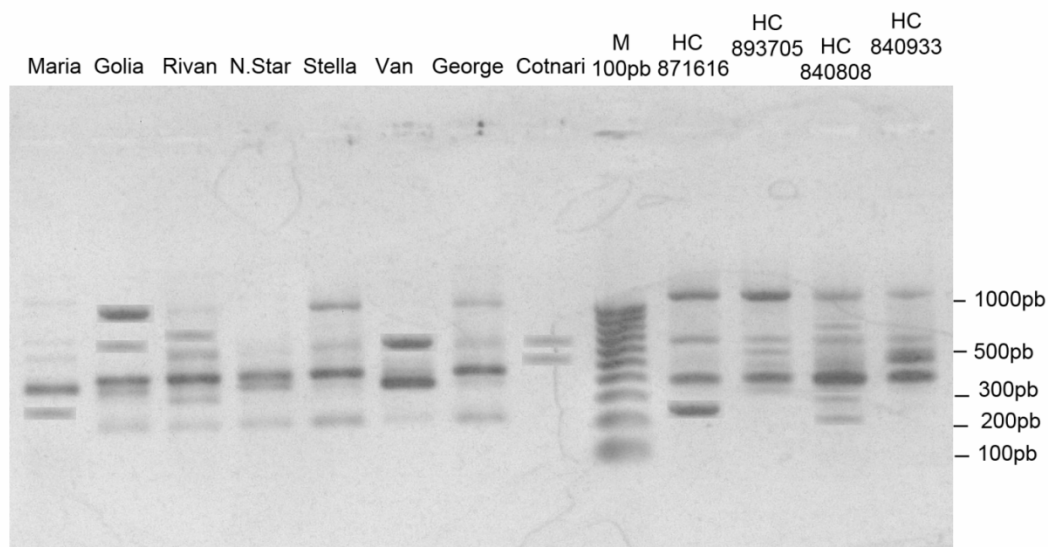
**Tabelul nr. 3.**

**Primerii RAPD testați**

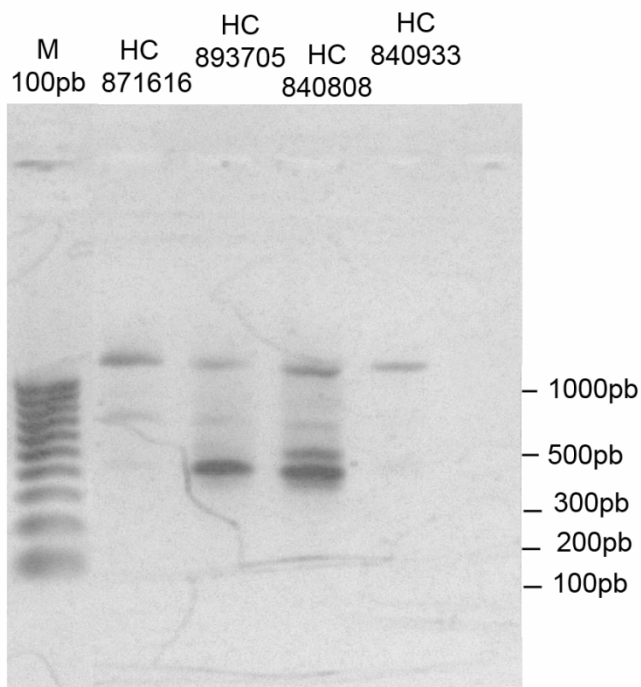
Nr. crt.	Primer	Secvența	Nr. crt.	Primer	Secvența
1.	OPA 02	TGCCGAGCTG	24.	S 21	CAGGCCCTTC
2.	OPA 06	GGTCCCTGAC	25.	S 24	AATCGGGCTG
3.	OPA 09	GGGTAACGCC	26.	S 29	GGGTAACGCC
4.	OPA 14	TCTGTGCTGG	27.	S 43	GTCGCCGTCA
5.	OPA 15	TTCCGAACCC	28.	S 51	AGCGCCATTG
6.	OPA 18	AGGTGACCGT	29.	S 60	ACCCGGTCAC
7.	OPA 20	GTTGCGATCC	30.	S 65	GATGACCGCC
8.	OPB 02	TGATCCCTGG	31.	S 68	TGGACCGGTG
9.	OPB 03	CATCCCCCTG	32.	S 118	GAATCGGCCA
10.	OPB 05	TGCGCCCTTC	33.	S 125	CCGAATTCCC
11.	OPB 06	TGCTCTGCCC	34.	S 167	CAGCGACAAG
12.	OPB 10	CTGCTGGGAC	35.	S 319	TGGCAAGGCA
13.	OPB 12	CCTTGACGCA	36.	S 341	CCCGGCATAA
14.	OPC 02	GTGAGGCGTC	37.	S 360	AAGCGGCCTC
15.	OPC 04	CCGCATCTAC	38.	S 441	GGCACGTAAG

Continuare la tabelul nr. 3

Nr. crt.	Primer	Secvența	Nr. crt.	Primer	Secvența
16.	OPC 06	GAACGGACTC	39.	S 444	AAGTCCGCTC
17.	OPC 07	GTCCCGACGA	40.	S 452	CAGTGCTGTG
18.	OPC 15	GACGGATCAG	41.	S 459	GGTGCACGTT
19.	OPC16	CACACTCCAG	42.	S 464	GTGTCTCAGG
20.	OPC 19	GTTGCCAGCC	43.	S 2134	AACACACGAG
21.	OPD 16	AGGGCGTAAG	44.		
22.	S 17	AGGGAACGAG	45.		
23.	S 18	CCACAGCAGT	46.		

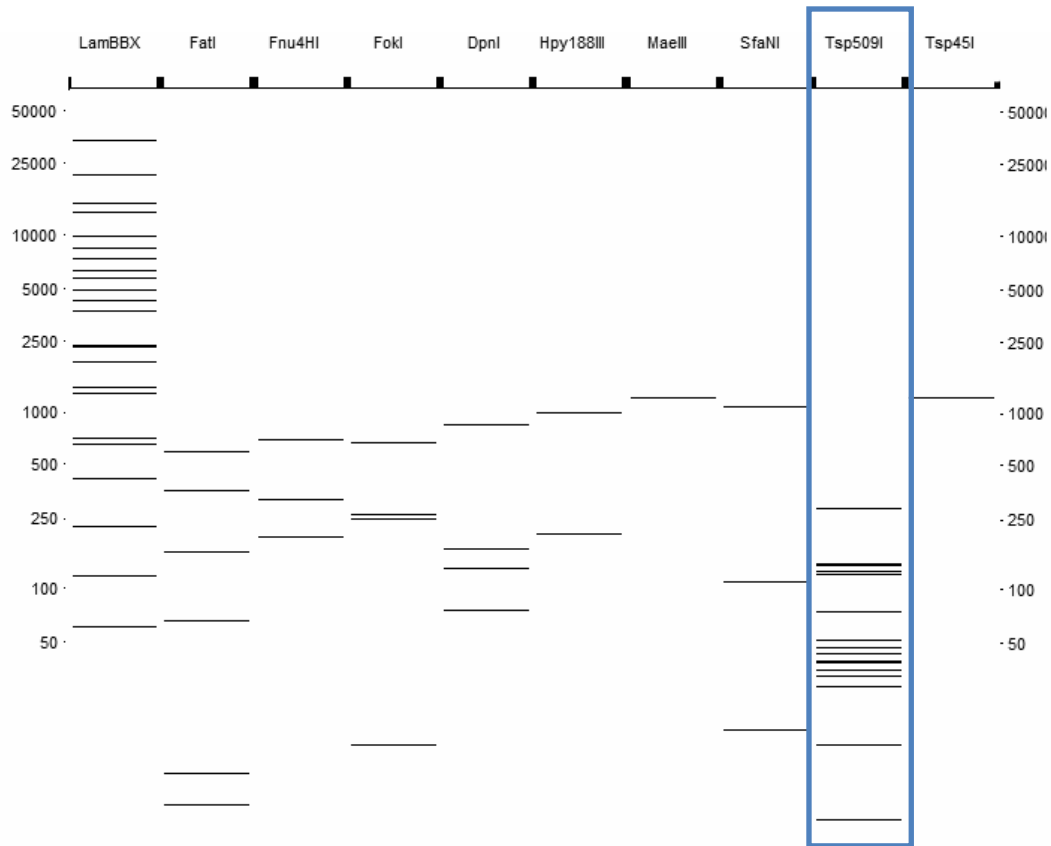


**Figura 8. RAPD OPC19**

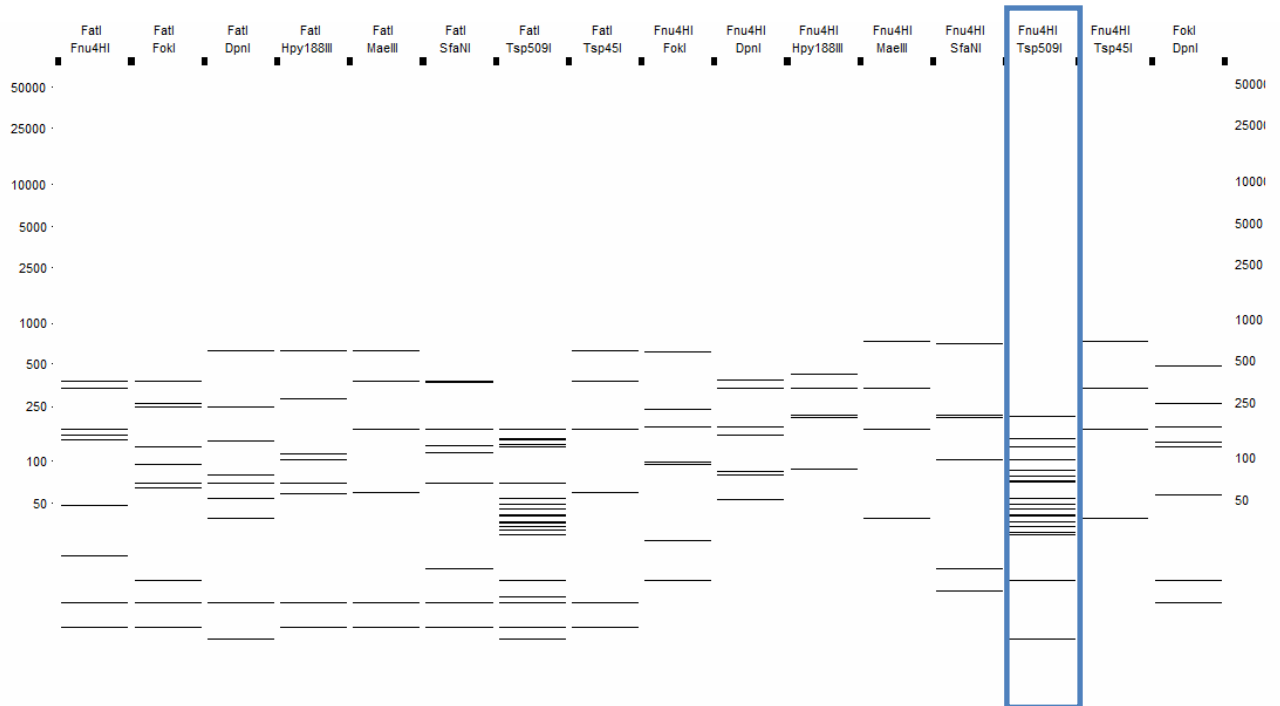


**Figura 9. RAPD OPA09**

După cum reiese din Figurile 8 și 9, au fost obținute patternurile caracteristice pentru fiecare variatate și hibridi. Pentru testarea enzimelor de restricție s-a folosit programul de analiză Lasergene 8 (Figurile 10 și 11).



**Figura 10.** Testarea enzimelor de restricție, varianta 1 – câte o enzimă/probă



**Figura 11.** Testarea enzimelor de restricție, varianta 1 – câte două enzime/probă

*Tabelul nr. 4.*

Identificarea numărului de situsuri de tăiere și lungimea (în pb) a fragmentelor rezultate

Fatl - 6 cuts				
Fatl	276	Fatl	873	598
Fatl	874	Fatl	1233	360
Fatl	34	Fatl	195	162
Fatl	205	Fatl	269	65
Fatl	196	Fatl	204	9
Fatl	270	Fatl	275	6

Fnu4HI - 3 cuts				
Fnu4HI	739	Fnu4HI	1424	686
Fnu4HI	420	Fnu4HI	738	319
Fnu4HI	225	Fnu4HI	419	195

Fokl - 4 cuts				
Fokl	645	Fokl	1322	678
Fokl	136	Fokl	394	259
Fokl	395	Fokl	644	250
Fokl	123	Fokl	135	13

Dpnl - 4 cuts				
Dpnl	275	Dpnl	1102	828
Dpnl	1103	Dpnl	1269	167
Dpnl	145	Dpnl	274	130
Dpnl	70	Dpnl	144	75

Tsp509I- 16 cuts				
Tsp509I	24	Tsp509I	305	282
Tsp509I	573	Tsp509I	709	137
Tsp509I	352	Tsp509I	485	134
Tsp509I	710	Tsp509I	834	125
Tsp509I	997	Tsp509I	1115	119
Tsp509I	835	Tsp509I	907	73
Tsp509I	908	Tsp509I	958	51
Tsp509I	306	Tsp509I	351	46
Tsp509I	486	Tsp509I	528	43
Tsp509I	529	Tsp509I	567	39
Tsp509I	959	Tsp509I	996	38
Tsp509I	1148	Tsp509I	1182	35
Tsp509I	1116	Tsp509I	1147	32
Tsp509I	1196	Tsp509I	1223	28
Tsp509I	1183	Tsp509I	1195	13
Tsp509I	568	Tsp509I	572	5

FatI+Tsp509I - 22 cuts				
FatI	34	FatI	195	162
Tsp509I	573	Tsp509I	709	137
Tsp509I	352	Tsp509I	485	134
Tsp509I	710	Tsp509I	834	125
Tsp509I	997	Tsp509I	1115	119
FatI	205	FatI	269	65
Tsp509I	908	Tsp509I	958	51
Tsp509I	306	Tsp509I	351	46
Tsp509I	486	Tsp509I	528	43
Tsp509I	835	FatI	873	39
Tsp509I	529	Tsp509I	567	39
Tsp509I	959	Tsp509I	996	38
Tsp509I	1148	Tsp509I	1182	35
FatI	874	Tsp509I	907	34
Tsp509I	1116	Tsp509I	1147	32
FatI	276	Tsp509I	305	30
Tsp509I	1196	Tsp509I	1223	28
Tsp509I	1183	Tsp509I	1195	13
Tsp509I	24	FatI	33	10
FatI	196	FatI	204	9
FatI	270	FatI	275	6
Tsp509I	568	Tsp509I	572	5

Au fost identificați 12 primeri RAPD și 10 enzime de restricție care pot furniza informațiile necesare pentru identificarea și caracterizarea pe baze moleculare a varietăților, soiurilor și hibridilor de cireș. Eficiența cea mai mare ca acțiune individuală s-a constatat în cazul enzimei Tsp509I, care induce apariția a 16 fragmente. Referitor la acțiunea însumată a două enzime, eficiența cea mai mare s-a constatat în cazul enzimelor FatI+Tsp509I, care au determinat apariția a 22 fragmente.

### **Obiectivul III. Caracterizarea biochimică a materialului pomologic și a hibrizilor (H.C. 840808, H.C. 840933, H.C. 871616, H.C. 893705)**

#### **Instituția Coordonatoare. Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară Iași**

##### **Activitatea III.1. Dozarea cantității de clorofilă din frunze**

Fotosinteza este un proces biologic prin care energia solară este captată și transformată, printr-o serie de procese care convertesc energia luminoasă, în energie biochimică necesară susținerii vieții plantelor. Acest proces remarcabil reprezintă baza vieții de pe Terra și de-a lungul timpului a alterat, din punct de vedere geologic, scoarța terestră. Mai mult, prin fotosinteză se asigură toată hrana și majoritatea resurselor noastre energetice. Poate cea mai bună modalitate pentru a aprecia importanța fotosintezei este să examinăm consecințele lipsei acesteia. Evenimentul catastrofic de acum 65 de milioane de ani, care a cauzat extincția dinozaurilor și a multor altor specii, mai mult ca sigur că n-a exercitat cea mai mare influență prin forța impactului asteroidului sau cometei, ci prin cantitățile uriașe de praf aruncate în atmosferă. Acest praf a blocat pătrunderea razelor solare, oprind fotosinteza pe Terra pe o perioadă de câteva luni sau câțva ani. Chiar și această scurtă întrerupere a procesului de fotosinteză, minusculă pe harta geologică a timpului, a avut efecte catastrofice asupra Biosferei. Fotosinteză înseamnă literalmente „sinteza cu ajutorul luminii”. Dar, această definiție largă poate include un număr de procese, care nu au nici o legătură cu fotosinteza și care nu dorim să le includă. Astfel vom adopta o definiție mai exactă a fotosintezei: *fotosinteza este un proces prin care energia luminoasă este captată de un organism și stocată pentru a pune în funcțiune procesele celulare*. Această definiție este încă relativ largă, incluzând forma familiară a fotosintezei bazată pe clorofilă, dar și forma foarte diferită de fotosinteză executată de bacterii folosind proteina bacteriorodopsina, și mecanisme care încă urmează a fi descoperite, prin care un organism poate obține energie din lumină. Procesele senzoriale ce au lumina ca factor de stimulare cum ar fi vederea sau acțiunea fitocromului, în care lumina este stocată ca informație în loc de energie, sunt excluse din definiția noastră a fotosintezei, ca și toate procesele care nu au loc în organismele vii.

Ce definește un organism fotosintetic? Trebuie ca energia organismului să fi fost derivată doar din lumină pentru ca acesta sa fie clasificat ca fotosintetic? Aici vom adopta o definiție relativ generoasă, incluzând în categoria organismelor fotosintetice orice organism capabil să-și derive o parte din energia sa celulară din lumină. Plantele superioare, organisme fotosintetice cu care suntem totuși familiari, în mare parte își obțin energia celulară din lumină. Dar există multe organisme care folosesc lumina doar pentru o parte din sursa lor de energie și, în anumite condiții, nu folosesc deloc lumina pentru obținerea energiei. În anumite condiții ele folosesc lumina ca parte semnificativă sau ca singură sursă de energie celulară. Astfel, adoptăm această definiție largă deoarece interesul nostru este să înțelegem procesul de stocare



al energiei. Cea mai comună formă de fotosinteză implică pigmentii clorofilieni și operează folosind procesul de transfer al electronilor excitați de lumină.

### **Pigmenții fotosintetici**

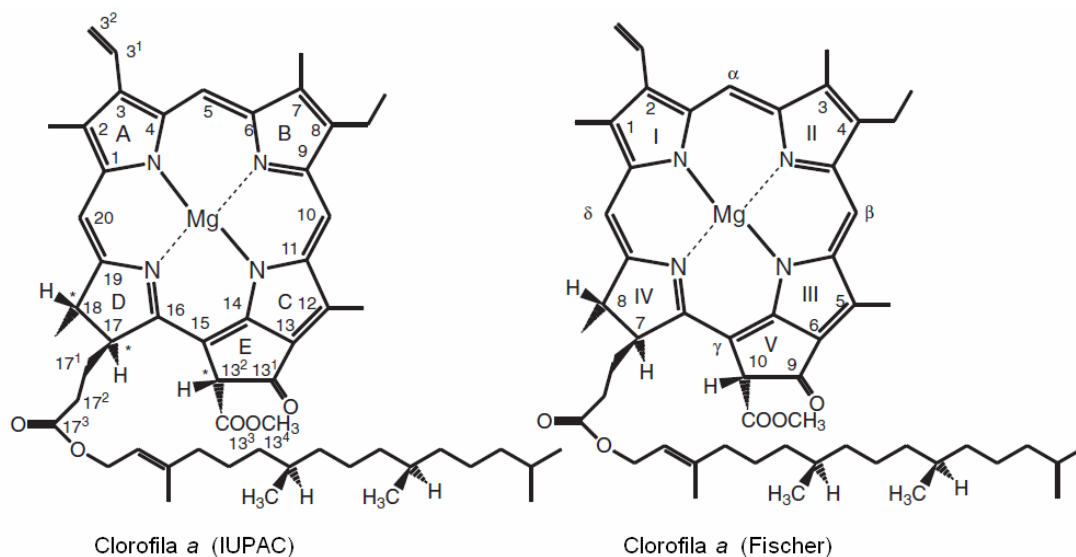
Esența vieții unui organism fotosintetic sunt pigmentii asimilatori ai acestuia. Fără ei lumina nu poate fi absorbită și astfel nici energia nu poate fi stocată. Există un număr remarcabil de pigmenți în diferite organisme fotosintetice ce îndeplinesc o varietate de roluri funcționale. Clorofilele au denumiri de la *a* la *d*, iar bacterioclorofilele de la *a* la *g*, în ordinea descoperirii lor. Totodată vom considera carotenoizii și bilinele celelalte două clase de pigmenți fotosintetici. Clorofilele sunt de mult subiectul cercetărilor (Aronoff,1966; Scheer,1991). Numele a fost utilizat pentru prima oară de Pelletier și Caventou (1818) pentru a descrie pigmentii verzi care sunt implicați în fotosinteză la plantele superioare. S-au acordat trei premii Nobel pentru studii efectuate pentru determinarea structurii clorofilei. Richard Wilstätter a avut onoarea de a primi premiul în 1915 pentru munca sa în stabilirea unei mari părți din structura clorofilei, incluzând și formula empirică și prezența magneziului (Mg) în structura sa. Lui Hans Fischer i-a fost acordat premiul Nobel în 1930 în mare parte pentru că a determinat structura completă și Robert Woodward a primit premiul în 1965 pentru munca sa, care a culminat cu sinteza completă a moleculei de clorofilă.

### **Structuri chimice și distribuția clorofilelor**

Structura moleculară chimică a clorofilei *a* este  $C_{55}H_{72}N_4O_5Mg$ . Această simplă reprezentare este total inadecvată pentru a sublinia proprietățile acestei fantastice molecule. Formula structurală a clorofilei *a* este reprezentată în figura 1. Este o moleculă planar pătratică, cu latura de aproximativ 10 Å. Atomul de Mg din centrul porțiunii plane se leagă cu patru atomi de azot. Fiecare atom de azot face parte dintr-un element substructural al moleculei care a derivat din pirolă, un compus organic ciclic, cu patru atom de azot la cinci inele cu câte patru atomi de carbon. Din acest motiv clorofilele și alte substanțe asemănătoare sunt deseori numite tetrapirole. Un al cincilea inel este format în colțul din dreapta jos și o coadă lungă de hidrocarbură ce este atașată în stanga jos (în reprezentarea standard). Chimic clorofilele sunt înrudite cu profirinele, care sunt deasemenea tetrapirole, însă porfirinele sunt, în general, molecule mai simetrice. Cele cinci inele ale moleculelor de clorofile sunt notate de la A la E, iar pozițiile înlocuite din macrociclu sunt numerotate în sensul acelor de ceasornic, începând cu inelul A, cum este arătat în figura 1, conform nomenclurii oficiale recunoscute de International of Pure and Applied Chemistry (IUPAC).

O nomenclatură mai veche cunoscută sub numele de sistemul Fischer este, deasemenea, arătată în figura 1. Toată literatura veche (chiar și o parte din literatura modernă despre clorofilă) folosesc nomenclatura Fischer, așadar, este nevoie să fim familiarizați cu ambele sisteme. Prin convenție axa *y* a moleculei, la toate clorofilele, este definită ca trecând prin atomii de N ai inelelor A și C, iar axa *x* trecând prin atomii de N ai inelelor B și D. Axa *z* este perpendiculară pe planul macrociclicilor. Astfel, benzile orbitalilor electronici *p* se extind pe o mare parte din moleculă, cu excepția inelului D, în care legătura dublă dintre  $C_{17}$  și  $C_{18}$  este redusă la una singură. Coada este formată prin condensarea a patru unități izoprenice și esterificate la inelul D. Aceasta, de multe ori, este denumită coada fitil după precursorul

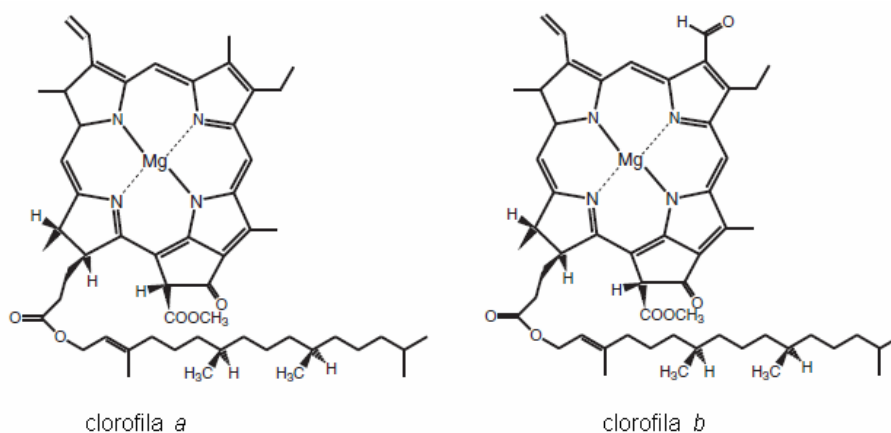
alcoolului poliizoprenoid, care este atașat în timpul biosintezei. Mai este denumită și coada izoprenoid. Majoritatea clorofililor sunt clasificate ca clorine în loc de porfirine, din cauza inelului D redus. Majoritatea pigmentilor clorofilieni conțin trei atomi de carbon chelați C<sub>132</sub>, C<sub>17</sub> și C<sub>18</sub>.



**Figura 1.** Schema de numerotare IUPAC și Fischer a inelelor moleculei de clorofilă *a* (după R. E. Blankenship 2002)

### Clorofila *a*

Clorofila *a* se întâlnește în toate organismele fotosintetice eucariote. Dintre procariote se găsește, în cantități mari, doar la cianobacterii incluzând proclorofitele. O variantă importantă a clorofilei *a* este clorofila *a'*. Acest pigment este diferit de clorofila *a* doar prin stereochemia de la poziția C<sub>132</sub>. Proprietățile spectrale și redox ale clorofilei *a'* sunt foarte similare cu cele ale clorofilei *a*. Cercetările curente sugerează că clorofila *a'* ar fi provenită din clorofilă *a*, cu toate că presupusa enzimă responsabilă de invertaza C<sub>132</sub> nu a fost încă identificată.



**Figura 2.** Structura chimică a moleculelor de clorofilă *a* și *b* (după R. E. Blankenship 2002)

### Clorofila *b*

Clorofila *b* este aproape identică cu clorofila *a*, exceptând poziția C-7, unde grupul formil înlocuiește grupul metil. Această schimbare modifică absorbția maximă a lungimi de undă către o lungime de undă mai mică. Clorofila *b* este cel mai important pigment absorbant de lumină în majoritatea organismelor fotosintetice eucariote, cu excepția algelor roșii și maro.

### Proprietățile spectrofotometrice ale clorofilelor

Toate clorofilele conțin două benzi principale de absorbție a radiațiilor: una în zona albastră sau aproape de UV și alta în zona roșie sau aproape de IR. Lipsa unei absorbții semnificative în zona verde a spectrului oferă clorofilelor culoarea lor caracteristică, verde sau albastru-verde. Spectrul de absorbție și de fluorescență a clorofilei *a* este arătată în figura 3. Cei patru orbitali moleculari, care sunt implicați în aceste tranziții, se împart în doi orbitali moleculari HOMO (Highest Occupied Molecular Orbitals) și doi orbitali moleculari inferiori LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbitals). Cele două tranziții cu energie scăzută sunt denumite *benzi Q*, iar celelalte două cu energie înaltă sunt cunoscute sub numele de *benzi B*. Deasemenea, aceste benzi mai sunt cunoscute și sub numele de *benzi Soret*.

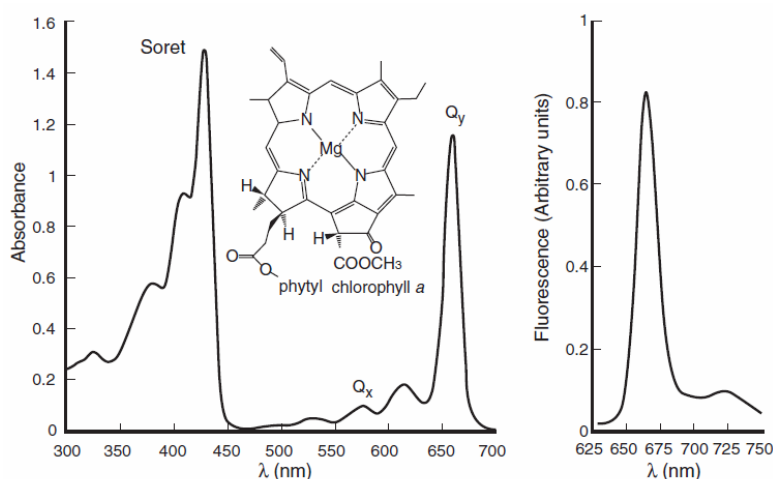


Figura 3. Absorbanta (stânga) și spectrul de fluorescență (dreapta) ale clorofilei *a* în eter dietilic (după R. E. Blankenship 2002)

### Pigmenții carotenoidici

Carotenoizii se găsesc în toate organismele fotosintetice native, dar și în multe alte organisme care nu fac fotosinteză (Frank *et al.*, 2000). Există sute de carotenoizi distincți din punct de vedere chimic. Dar sunt câteva caracteristici constante care sunt comune la majoritatea carotenoizilor fotosintetici. Carotenoizii din organismele aerobe conțin, de obicei, inele la fiecare capăt, iar majoritatea carotenoizilor au atomi de oxigen, de obicei făcând parte din grupări hidroxil sau epoxidice.

Biosinteza carotenoizilor constă în asamblarea unor molecule mari, dintr-un ansamblu de componente de bază, catene ramificate cu cinci atomi de carbon ale speciilor izoprene (Britton, 1998). Este succesiv condensat în 10-, 20- și 40-molecule de carbon, rezultând fitene.

Fitena este o hidrocarbură care conține opt unități de izopren atașate linear. Este lipsită de culoare deoarece majoritatea legăturilor duble sunt izolate. A doua etapă a biosintezei constă în desaturări succesive, producând o serie de compuși intermediari cu un număr de legături duble în creștere. Efectul provocat este de mutare a absorbției în regiunea vizibilă. Produsul final al acestei etape este licopenul, care este responsabil de culoarea roșie a tomatelor.

Carotenoizii au câteva funcții esențiale bine documentate în sistemele fotosintetice. În primul rând sunt pigmenți auxiliari în colectarea luminii, absorbind lumina și transferând energia unui pigment clorofilian. Majoritatea complexelor antenă conțin carotenoizi. În al doilea rând au rol într-un proces numit fotoprotecție. Carotenoizii opresc rapid stările de excitare triplet ale clorofilelor înainte ca acestea să producă o reacție cu oxigenul pentru a forma starea de excitare singlet, foarte reactivă și dăunătoare, a oxigenului. Ei mai înăbușesc oxigenul singlet dacă totuși se formează. În cele din urmă, recent s-a mai arătat că, carotenoizii sunt implicați în reglarea transferului de energie în antene. Acest proces, care este denumit ciclul xantofil, împiedică supraexcitarea sistemului fotosintetic prin disiparea excesului de energie.

Carotenoizii au proprietăți energetice și spectrofotometrice foarte foarte neobișnuite. De obicei ei prezintă o bandă de absorbție cuprinsă în domeniul 400-500 nm, care le conferă culoarea portocalie caracteristică .

### **Metabolismul carbonului**

Excitarea electronilor indusă de lumină duce la sinteza ATP și NADPH, care sunt compuși cu energie mare, cu o stabilitate intermediară. Aceste molecule macroergice susțin energetic procesele celulare. Dar ele nu sunt potrivite pentru stocarea energiei pe lungă durată, cum ar fi formarea biomasei plantei, sau pentru stocarea în semințe, tuberculi sau fructe. Pentru aceasta este necesară convertirea energiei într-o formă mai stabilă. Majoritatea plantelor produc zaharuri sau carbohidrați mai complecși cum ar fi amidonul, pentru stocarea energiei pe durată îndelungată, însă unele plante produc cantități însemnate de proteine sau uleiuri.

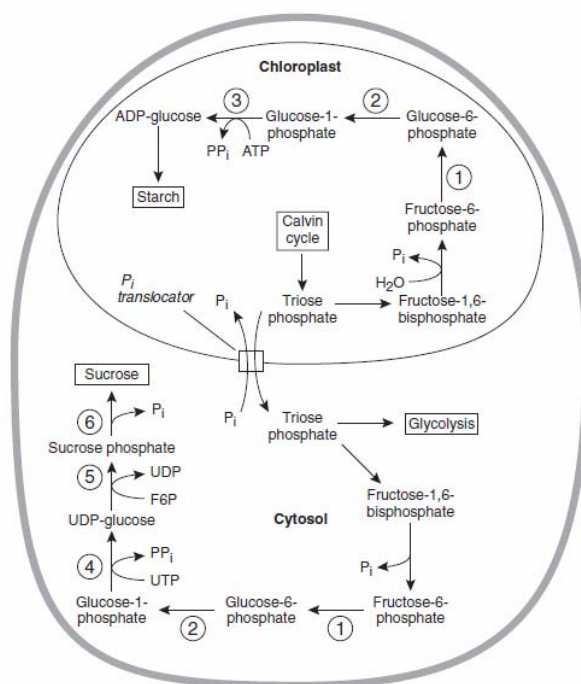
### **Sinteza zaharozei și amidonului**

Carbonul fixat în ciclul Calvin este procesat pentru stocare îndelungată în două forme distincte. Una din aceste forme este amidonul, care este produs și stocat în cloroplaste. A doua formă este zaharoza, care este sintetizată în citoplasmă. În ambele cazuri, trifosfatul este punctul de start pentru conversie. Ambele procese au loc cu o frecvență ridicată, iar interacțiunea dintre ele este foarte bine reglată. În ambele cazuri produsul stocat este o oligozaharidă nereducătoare, care nu este fosforilată. Glucoza este oxidată relativ ușor și nu este adecvată pentru stocare. În afară de aceasta, prin convertirea zaharului într-un produs polimeric precum amidonul, pot fi stocate cantități mari de carbon fără a crește presiunea osmotică din celule. Un produs fosforilat ar lega rapid majoritatea fosfatului din celule și ar cauza inactivarea multor reacții. În figura 4 sunt redată schematic căile complete ale sintezei amidonului și zaharozei.

Sinteza amidonului are loc în cloroplaste. În timpul zilei sunt făcute și depozitate mari cantități de amidon în granulele de amidon din stroma cloroplastelor. Acest amidon este mobilizat în mare parte pe durata nopții pentru a aproviziona cu carbon diferite procese ale

cloroplastelor și astfel nu reprezintă un produs de rezervă de lungă durată ci, mai degrabă, un produs de stocare de durată intermediară. Sinteza amidonului începe cu trifosfatul, principalul produs al ciclului Calvin, cum este reprezentat în figura 4.

Sinteza zaharozei are loc în citoplasmă cu ajutorul trifosfatului sintetizat de ciclul Calvin și exportat în citoplasmă. Reacțiile inițiale sunt identice cu primii pași din sinteza amidonului, cu toate că enzimele sunt izoforme citosolice ale enzimelor cloroplastice. Reacțiile sintezei zaharozei sunt arătate, de asemenea, în figura 4.



**Figura 4. Căile de sinteză ale amidonului și zaharozei din celula vegetală**  
(după R. E. Blankenship 2002)

### Materialul și metoda

Pentru determinarea conținutului de pigmenți asimilatori s-au folosit frunze mature ale următoarelor soiuri și hibrizi de cireș (*Prunus avium* L.): Van, Stella, Maria, Bucium, Rivan, George, Golia, New Star, Boambe de Cotnari, Germersdorf, H.C. 840808, H.C. 840933, H.C. 871616 și H.C. 893705.

Pigmenții asimilatori au fost extrași în acetonă și s-au dozat spectrofotometric.

### Conținutul pigmenților asimilatori la soiurile și hibridii de cireș luați în studiu

Analizând rezultatele din *tabelul 1* constatăm diferențe ale conținutului de pigmenți asimilatori la soiurile și hibridii de cireș luați în studiu. Cele mai mici valori ale cantităților de clorofilă au fost înregistrate la soiul Germersdorf și au fost în jur de  $3,179 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (S.U.) pentru clorofila *a*,  $0,901 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (S.U.) pentru clorofila *b* și  $1,142 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (S.U.) în cazul pigmenților carotenoidici înregistrându-se un total de circa  $5,222 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (S.U.) pigmenți asimilatori în frunzele acestui soi de cireș. Valorile maxime ale conținutului de pigmenți clorofilieni și carotenoidici le deține soiul Van și au fost de aproximativ  $5,469 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (S.U.) în cazul clorofilei *a*,  $2,894 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (S.U.) în cazul clorofilei *b* și  $2,040 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (S.U.) la

pigmenții carotenoidici. Totalul pigmentilor asimilatori a atins valoarea de  $10,358 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (S.U.).

După cum se știe din literatura de specialitate, un cuantozom (complexul dintre pigmentii fotosintetici și membranele fosfolipo-proteice ale granei) este alcătuit din 160 molecule clorofilă *a* + 70 molecule clorofilă *b* + 48 molecule de pigmenți carotenoidici etc. Astfel, teoretic, raportul dintre clorofila *a* și clorofila *b* ar trebui să fie cuprins 1:2 – 1:3. În situația noastră doar la soiul Van raportul dintre tipurile *a* și *b* de clorofilă a fost de 1:2. La soiurile Maria, Golia, New Star, Boambe de Cotnari, hibrizii H.C. 871616 și H.C. 893705 acest raport a fost de 1:3. Însă, la soiurile Stella, Bucium, Rivian, George, Germersdorf și hibrizii H.C. 840808, H.C. 840933 s-a constatat un raport de 1:4 dintre clorofilele *a* și *b*.

Tabelul nr. 1

Continutul de pigmenti asimilatori la unele soiuri și hibridi de cireș (*Prunus avium* L.)

Soiuri de cires	Clorofila <i>a</i> ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ S.U.)	Clorofila <i>b</i> ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ S.U.)	Raportul dintre clorofila <i>a/b</i>	Pigmenti carotenoidici ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ S.U.)	Total pigmenti asimilatori ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ S.U.)
Van	5,469	2,849	1:2	2,040	10,358
Stella	4,745	1,354	1:4	1,480	7,578
Maria	3,784	1,197	1:3	1,338	6,319
Bucium	4,362	1,202	1:4	1,468	7,032
Rivan	4,577	1,269	1:4	1,455	7,301
George	3,901	1,083	1:4	1,295	6,278
Golia	3,632	1,095	1:3	1,223	5,950
New Star	4,737	1,423	1:3	1,454	7,614
Boambe de Cotnari	3,775	1,151	1:3	1,245	6,171
Germersdorf	3,179	0,901	1:4	1,142	5,222
H.C. 840808	3,593	1,022	1:4	1,294	5,909
H.C. 840933	4,232	1,197	1:4	1,440	6,870
H.C. 871616	4,596	1,338	1:3	1,509	7,444
H.C. 893705	4,804	1,420	1:3	1,629	7,853

S.U. – substanta uscata

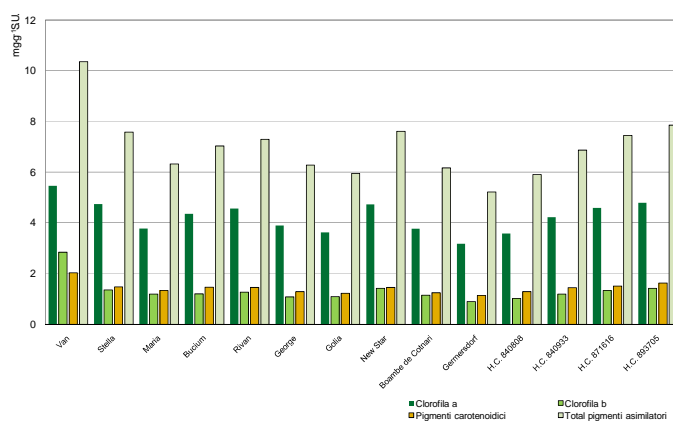


Figura 5. Continutul de pigmenti asimilatori din frunzele unor soiuri și hibridi de cireș (*Prunus avium* L.)

Cantitățile mai ridicate de clorofilă *b* (figura 5) pun în evidență o capacitate mai mare de captare a radiațiilor luminoase de către frunzele acestor soiuri și hibrizi de cireș și, prin urmare, o rată mai mare de conversie a energiei luminoase în energie chimică potențială. Astfel, putem spune ca aceste soiuri produc cantități mai mari de carbohidrați și substanțe de rezervă necesare bunei dezvoltări ale pomilor. Deasemenea, și cantitățile relativ crescute de pigmenți carotenoidici înregistrate la toți hibrizii și soiurile analizate scot în evidență un mecanism accentuat pe captarea radiațiilor luminoase și, prin urmare, o abilitate de protecție srescută împotriva factorilor secundari nocivi rezultați în urma reacțiilor fotochimice din cloroplaste și acțiunii radiațiilor ultraviolete.

### ***Activitatea III.2. Dozarea cantității de zaharuri din fructe si frunze***

Fiecare plantă lemnoasă perenă reprezintă un sistem bine integrat de ‘utilizatori’ concurenți (locuri de utilizare) de carbohidrați. Competiția internă pentru carbohidrați se observă din variațiile ratei de circulație a carbohidraților dinspre ‘surse’ către ‘utilizatori’, precum și din sensul de transportare a acestora între ‘utilizatori’ ca urmare a schimbului dintre diferitele organe ale plantei. Majoritatea carbohidraților sunt produși în frunze, însă unii pot fi sintetizați în cotiledoane, hipocotil, muguri, ramuri, tulpini, flori, fructe, precum și în conuri. Deși, în cea mai mare parte, rezervele de carbohidrați sunt transportați prin floem unii carbohidrați sunt preluați de către ‘utilizatori’ din seva brută. Zaharurile se acumulează activ în floem și sunt transportați pasiv către ‘utilizatori’ împotriva gradientului de concentrație.

Substanța uscată a unei plante lemnoase mature conține o mică parte din producția de fotosintază. Această discrepanță se datorează nu doar pierderii unor organe de ecătore plantă sau a consumului țesuturilor plantelor de către ierbivore dar și utilizării carbohidraților în respirație, transpirație, secreție, pierderii prin spălare, transportării către alte plante prin intermediul altoirilor radiculare naturale și micorizelor. Există variații temporale și spațiale însemnate în ceea ce privește utilizarea carbohidraților produși recent și a celor de rezervă în metabolism, creșterea lăstarilor, radacinilor și organelor de reproducere ale plantei. O parte din rezerva de carbohidrați este utilizată pentru producerea substanțelor de apărare împotriva fungilor, ierbivorelor și plantelor concurente.

Plantele lemnoase formează rezerve de carbohidrați în perioada de producție excesivă a acestora și le consumă când rata de utilizare a carbohidraților este mai ridicată decât cea de sinteză. Carbohidrații depozitați joacă un rol important în metabolism, creștere, apărare, prevenirea și amânarea mortalității plantei. Deoarece mai mult de două treimi din substanța uscată a plantelor lemnoase constă din zaharuri transformate creșterea și dezvoltarea lor depinde fundamental de sinteza carbohidraților, transportul acestora de la ‘surse’ (locurile de sinteză) la ‘utilizatori’ (locurile de utilizare) și asimilarea sistematică în țesuturi noi (Kramer & Kozlowski, 1979). Orice plantă lemnoasă reprezintă un sistem bine integrat de ‘utilizatori’ de carbohidrați ce concurează între ei. Rata și direcția de transportare a carbohidraților sunt determinate de tipul conexiunilor vasculare, de densitatea relativă a diferiților ‘utilizatori’ precum și de amplasarea acestora față de rezervele de carbohidrați sau de locul de sinteză (Kozlowski et al., 1991). Deși, inițial prin termenii de ‘sursă’ și ‘utilizator’ se refereau la



organe, în prezent acești termeni se aplică și nivelelor structurale celulare și subcelulare (Moorby, 1977). Celulele în creștere acționează ca ‘utilizator’ de carbohidrați dar mai târziu pot acționa ca ‘surse’ devenind fotosintetic active sau eliberând carbohidrații depozitați. Dacă un organ este ‘sursă’ sau ‘utilizator’, într-un anumit interval de timp, depinde de suma celulelor sale ‘surse’ și ‘utilizatoare’. La nivel subcelular cloroplastele pot acționa ca ‘surse’ în timp ce mitocondriile, din aceeași celulă, acționează ca ‘utilizatori’ (Dale & Sutcliffe, 1986).

### **Sursele de carbohidrați**

Deși majoritatea carbohidraților sunt sintetizați în frunze prin fotosinteză, unii sunt produși și în alte țesuturi verzi din cotiledoane, muguri, ramuri, tulpini, flori, fructe, și conuri (Kozlowski & Keller, 1966).

### **Utilizarea carbohidraților**

Plantele lemnoase utilizează atât carbohidrații curent produși cât și din rezerve, adesea în același timp, pentru creștere și metabolism. Deoarece plantele trec prin stadii succesive de creștere cum sunt stadiul de plantulă, puiet, matur și senescență, structura coroanelor acestora și modul de distribuție a carbohidraților devin din ce în ce mai complexe. Modul de distribuție al carbohidraților la arbori suferă variații sezoniere. Foiasele produc primavara frunze noi cu un cost redus de C per unitatea de suprafață dar cu un cost ridicat al rezervei de carbohidrați (Dickson, 1989). Există trei tipuri de rezerve de carbohidrați din care C este preluat în diferite rate. Pierderea carbohidraților din fiecare tip de rezervă este de ordin mai mic decât precedentul. Există un tip de rezervă temporară (mică), în care atomul de C se gasește mai puțin de ½ ora. Acest tip de rezervă conține atomi de C ce sunt transportați din locul de fixare a CO<sub>2</sub> la elementele sevei. De asemenea, există o rezervă de durată medie constituită, în principal, din amidonul din plastidele mezofilului în care atomul de C petrece, în medie, 16 ore. Rata de repunere în libertate a atomului de C depinde de rata de sinteză și de hidroliză a amidonului. Există și a treia tip de rezervă alcătuită din compuși mult mai stabili, cum este celuloza, care eliberează foarte lent atomul de C fixat. Distribuția carbonului între aceste trei tipuri de rezerve este, probabil, reglată de activitatea sistemului enzimatic și de accesul acestora la producția de fotosinteză (Dale & Sutcliffe, 1986).

### **Depozitarea**

După cum a subliniat Chapin et al. (1990) termenul de depozitare a fost utilizat în diferite contexte însă uneori nu era explicit definit. În cazul nostru depozitarea se referă la carbohidrații care se acumulează în diferite organe, țesuturi și celule ale plantei care, mai târziu, pot fi utilizați în procesele de biosinteză de menținere a metabolismului și creșterii. În acord cu Chapin et al. (1990), depozitarea carbohidraților poate să cuprindă atâtă acumularea cât și reciclarea rezervelor acestora. Plantele lemnoase acumulează carbohidrați nestructurali în perioada de producere excesivă a acestora și-i consumă atunci când rata de utilizare este mai mare decât rata de sinteză (Kozlowski et al., 1991; Oliveira & Priestley, 1988).

### **Importanța rezervelor de carbohidrați**

Rezervele de carbohidrați joacă un rol important în metabolismul, dezvoltarea, creșterea rezistenței la ger, apărare, amânarea și prevenirea mortalității plantelor lemnoase.

Acumularea rezervelor de carbohidrați este deosebit de sensibilă la stresul sfârșitului de sezon, iar reducerea rezervelor acestora poate influența foarte mult metabolismul și creșterea plantelor în anul următor (Loescher et al., 1990).

#### 1. *R respirația*

Rezervele de carbohidrați sunt esențiale în menținerea respirației tuturor celulelor vii când activitatea de fotosinteză este redusă sau oprită.

#### 2. *Creșterea*

Diferite cantități din rezerva de carbohidrați sunt folosite pentru dezvoltarea vegetativă și reproductivă a plantei. După germinare, dezvoltarea plantulelor depinde, în totalitate, de rezervele de nutrienți (Kozłowski, 1976). Carbohidrații depozitați în semințe sunt hidrolizați și transportați în celulele meristemice ale embrionului. Germinarea seminței, la fel ca și creșterea și supraviețuirea plantulei, sunt puternic influențate de cantitatea rezervelor de nutrienți. Semințele mai grele, din aceeași specie, care conțin cantități mai mari de carbohidrați și/sau lipide, germinează, în general, mai repede, iar plantulele se dezvoltă mai viguros față de acelea care provin din semințe mai ușoare.

La multe specii, cum ar fi *Malus domestica* (Ferree & Palmer, 1982; Hansen, 1971 a), *Prunus avium* (Roper & Kennedy, 1986), *Coffea arabica* (Maestri & Barros, 1977; Patel, 1970; Wormer & Ebagole, 1965) și multe altele, carbohidrații recent sintetizați sunt folosiți pentru dezvoltarea organelor reproducătoare concomitent cu rezervele de carohidrați. Fructele în dezvoltare de *Coffea arabica* folosesc carbohidrații de rezervă și cei produși recent în același timp (Janardhan et al., 1971).

#### 3. *Rezistența la temperaturi scăzute*

Acumularea zaharurilor în perioada de toamnă este asociată rezistenței la ger a plantelor. Zaharurile cresc rezistența la ger a plantelor acumulându-se în vacuole și împiedicând formarea acelor de gheață intercelulare, determinând creșterea toleranței la deshidratarea indusă de înghețuri și diluarea compușilor electrolitici ce sunt potențial toxici pentru membrane (Sakai & Larcher, 1987).

#### 4. *Apărare*

Rezervele de carbohidrați sunt importante în prevenirea infectării plantelor cu diferiți patogeni și atacurilor de insecte (Gregory et al., 1986; Schoeneweiss, 1978). Supraviețuirea și dezvoltarea unor insecte pe arbori supuși stresului ambiental se atribuie capacității de apărare scăzute ale acestora. De exemplu, atacul reușit al gândacilor de scoarță la gimnosperme depinde de conținutul de carbohidrați disponibili pentru sinteza de oleoșine ce respinge atacul gândacilor de scoarță. Capacitatea redusă a arborilor stresați de a respinge atacul gândacilor de scoarță este corelată cu rezervele scăzute de carbohidrați (Christiansen et al., 1987; Lorio & Sommers, 1986). Atacul unei specii de insecte, influențând rezerva de carbohidrați, predispune arborii la atacul altor specii de insecte. De exemplu, defolierea la brad (*Abies grandis*) de către *Orygia pseudotsuga* predispune arborii la infestarea cu *Scolytus ventralis* (Wright et al., 1979). Defolierea reduce conținutul de carbohidrați și monoterpeni, iar arborii ce produc cantități mai mici de monoterpeni sunt mai susceptibili la atacul gândacului de scoarță.

### 5. Mortalitatea

Mortalitatea plantelor lemnoase adesea este asociată cu epuizarea rezervelor de carbohidrați. Plantulele care conțin rezerve mici de carbohidrați manifestă o rată a mortalității crescută chiar dacă sunt supuși unor condiții reduse de stres ale mediului (Kozłowski, 1976, 1979). Arborii bătrâni dar scunzi, de vigoare mică și arborii cu rezerve mici de carbohidrați și care cresc în apropierea altor arbori sunt mai predispuși să moară. Dimpotrivă, arborii sănătoși și viguroși, în general, acumulează suficienți carbohidrați pentru a-și vindeca rănila și a menține procesele fiziologice la un nivel ce permite susținerea vieții pe durata expunerii la condițiile de stres ambiant (Waring, 1987). Rezervele adecvate de carbohidrați pot crește toleranța la secetă la puietii plantați determinând o ajustare a osmozei și menținându-și turgescența necesară în cazul unui potențial hidric scăzut din xilem (Ritchie, 1982).

### Tipul compușilor de rezervă

Amidonul este considerat cea mai importantă rezervă de carbohidrați deoarece acesta indică existența unui surplus de carbohidrați. Amidonul se acumulează atunci când crește conținutul de carbohidrați și se transformă în zaharuri când scade cantitatea de glucide și atunci când temperaturile sunt scăzute (Kozłowski & Keller, 1966). Conținutul de amidon adesea era folosit ca unic indicator al stării rezervelor de carbohidrați (Adams et al., 1986; Ford & Deans, 1977). Dintre carbohidrații solubili în apă sucroza reprezintă principalul carbohidrat transportabil și depozitabil (ap Rees, 1984). Pe lângă amidon și sucroză există o varietate de alți compuși de acumulare în plantele lemnoase. Substanțele de rezervă variază de la simple molecule cum sunt sucroza, polioli, oligozaharidele și aminoacizii până la compuși complecși ca polizaharidele și lipidele. Polioli sunt componenți comuni ale unor plante lemnoase. Sorbitolul se găsește la multe specii de *Rosaceae* precum și din genurile *Malus*, *Pyrus* și *Prunus*. Manitolul se întâlnește la speciile genului *Rubiaceae* (de ex. *Coffea*) și *Oleaceae* (de ex. *Olea*) (Bielecki, 1982; Loescher, 1987). Carbohidrații solubili, alții decât sucroza ce se găsește în cantități mici în ramuri și rădăcini, sunt constituiți din inozitol, xiloză, rhamnoză, maltoză, arabinoză, riboză, manoză, rafinoză și stachioză (Loescher et al., 1990). Rezervele de molecule mici se găsesc, de obicei, în vacuolele celulare. Rezervele de substanțe complexe se găsesc în compartimente caracteristice (de ex. amidonul în plastide, manozele în pereții celulari). Corpuri lipidici de rezervă se găsesc în cloroplaste sau în citoplasmă. Proteinele de rezervă se depozitează în vacuole și plastide (Franceschi, 1986). Amidonul este cea mai răspândită rezervă de carbohidrați la pomii de *Prunus avium* L. 'Bing'. Pe durata iernii, în ramurile și tulpinile de 1 și 2 ani, amidonul s-a transformat în carbohidrați solubili. Sucroza a fost carbohidratul solubil predominant în perioada dormanței iar sorbitolul în perioada de creștere. Rafinoza a fost prezentă doar în perioada de dormanță, iar inozitolul doar în perioada de creștere (Keller & Loescher, 1989). Există câteva observații ce confirmă faptul că hemiceluloza servește și ca rezervă nutritivă. Hemicelulozele se găsesc în unele semințe și sunt digerate și folosite în respirație. Cu toate acestea, există unele dezbateri cu privire la măsura în care hemiceluloza din pereții celulelor de xilem este folosită ca rezervă nutritivă (Kramer & Kozłowski, 1979). Tipul și cantitățile rezervelor de carbohidrați variază semnificativ în diferite țesuturi.

### **Ciclul sezonier al rezervelor de carbohidrați**

Modelul anual al acumulărilor de carbohidrați la plantele lemnoase diferă între specii și genotipuri în funcție de caracteristicile lor de creștere. Rezervele de carbohidrați din tulpini și ramuri la arborii din zona temperată scade brusc la începutul verii, atinge minimumul pe la sfârșitul verii apoi crește atingând maximumul toamna după care scade lent în timpul iernii (Kramer & Kozlowski, 1979). Acumulările de amidon suferă modificări sezoniere considerabile (Ericsson, 1984). Arborii din zona temperată manifestă cel puțin două minime și maxime ale conținutului de amidon. Rezervele de amidon din ramuri, în general, sunt mai mici în perioada dezmodurii. Mobilizarea amidonului este precedată de repornirea creșterii lastarilor (Cottignies, 1986). După ce creșterea lăstarilor încetinește cresc rezervele de amidon până la maximumul de la sfârșitul verii și prima parte de toamnă. Însă toamna târziu, când zilele devin mai scurte și nopțile mai reci, are loc hidroliza amidonului până la zaharuri. La sfârșitul iernii are loc o creștere a rezervelor de amidon ca urmare a resintetizării sale din zaharuri. Resintetizarea amidonului de la sfârșitul iernii a fost pusă în evidență la multe specii de foioase și conifere din zona temperată (Ryugo, 1988).

Tipul acumulărilor de amidon în ramurile de rod adesea diferă între soiuri în funcție de perioada de recoltare a fructelor. Acest fapt a fost evidențiat la soiurile de piersic (*Prunus piersica*) Corona, Elberta și Coronado care ajung la maturitate în diferite perioade de timp (Ryugo, 1988). Fructele soiului Coronado ajung la maturitate la jumătatea lunii Iulie în perioada de creștere intensivă a lăstarilor. Înainte de recoltare, în ramuri, se acumulează o cantitate mică de amidon, iar ce mai mare parte se acumulează după recoltare. Fructele soiului Elberta ajung la maturitate la începutul lunii august când rata de creștere a lăstarilor începe să scadă. O anumită cantitate de amidon se acumulează în scoarță în luna mai. Aceasta descrește puțin în timpul lignificării endocarpului semințelor, crește ușor pe durata stadiului III și scade din nou în perioada de maturare a fructelor. După recoltarea fructelor amidonul se acumulează în xilem aproximativ 8 săptămâni (până la căderea frunzelor). Fructele soiului Corona se recoltează la începutul lunii septembrie când creșterea lăstarilor a încetat. Rezervele de amidon din xilem scad progresiv din momentul dezmodurii până la începutul lunii iunie când are loc întărirea semințelor. Însă, în scoarță, amidonul se acumulează și în perioada timpurie a creșterii fructelor. În timpul maturării fructelor se utilizează doar carbohidrații acumulați în scoarță. După recoltarea fructelor amidonul se acumulează intens atât în scoarță cât și în xilem. La soiul de cireș (*Prunus avium* L.) Bing, conținutul total de carbohidrați nonstructurali variază semnificativ de-a lungul anului. Conținutul de carbohidrați nonstructurali crește brusc în piteni în timpul dezmodurii, dar scade în celelalte țesuturi. Conținutul total de carbohidrați nonstructurali a fost mai mic în toate țesuturile (între 2 și 4% față de nivelul din toamnă), cu excepția pitenilor, la scurt timp după înflorire, dar apoi a crescut din nou. Conținutul total de carbohidrați se acumulează mai lent în ultimele 4-6 săptămâni a creșterii fructelor, dar acumularea se intensifică după recoltarea fructelor (Keller & Loescher, 1989).

### **Material și metodă**

Determinarea glucidelor solubile din frunzele și fructele soiurilor Van, Stella, Maria, Bucium, Rivan, George, Golia, New Star, Boambe de Cotnari, Germersdorf și hibrizilor de

cireș H.C. 840808, H.C. 840933, H.C. 871616, H.C. 893705 a fost realizată prin metod School modificată de Vlad Artenie. Substanța uscată solubilă a fost determinată la suc de fructe prin metoda refractometrică.

### Continutul de glucide solubile și substanța uscată solubilă

Rezultatele analizelor efectuate la soiurile și hibridii de cireș au scos în evidență diferențe atât ale valorilor conținutului de glucide solubile prezente în fruzele și fructele soiurilor și hibridilor de cireș luați în studiu cât și un indice diferit al raportului glucidelor solubile din fructe/glucide solubile din frunze. Deasemenea, am constatat diferențe destul de evidente ale conținutului de substanță uscată solubilă din suc de fructele acestor soiuri și hibridi.

Tabelul nr. 2

Continutul de glucide solubile și substanța uscată solubilă în frunzele și fructele unor soiuri de cireș  
(*Prunus avium* L.)

Soiuri de cireș	Glucide solubile din frunze (g·100g <sup>-1</sup> )	Substanța uscată solubilă din suc de cireș (g·100g <sup>-1</sup> )	Glucide solubile din suc de cireș (g·100g <sup>-1</sup> )	Indicele glucidic fruct/frunză
Van	5.86	14.45	12	2.0
Stella	7.85	15.02	14	1.8
Maria	6.23	14.97	14	2.2
Bucium	5.49	15.15	14	2.6
Rivan	4.64	17.99	16	3.4
George	7.25	16.12	15	2.1
Golia	7.89	14.91	14	1.8
New Star	6.84	14.95	13	1.9
Boambe de Cotnari	7.39	17.52	17	2.3
Germersdorf	6.95	15.05	14	2.0
H.C. 840808	7.17	15.15	14	2.0
H.C. 840933	6.65	16.02	15	2.3
H.C. 871616	7.04	16.07	15	2.1
H.C. 893705	3.78	17.94	16	4.2

Valorile au fost cuprinse între 3,78% conținut de glucide solubile la hibridul de cireș H.C. 893705 și 7,89% la soiul Golia. Un conținut ridicat de glucide solubile foliare (peste 7%) am evidențiat și la soiurile Stella (7,85%), Boambe de Cotnari (7,39%), George (7,25%), hibridii H.C. 840808 (7,17%) și H.C. 871616 (7,04%).

În ce privește conținutul de glucide solubile din fructe, valorile au fost cuprinse între 12% în cazul soiului Van și 17% la soiul Boambe de Cotnari, situație cu totul diferită față de conținutul de glucide din frunze.

După cum se menționează în literatura de specialitate, sinteza unei cantități sporite de carbohidrați de către masa foliară a pomului îi pune la dispoziție rezerve energetice și structurale suficiente atât pentru a crește și a se dezvolta viguros, cât și pentru a face față factorilor de stres ale mediului, bolilor și dăunătorilor. Însă, pentru cultura cireșului, se ia în considerație nu doar cantitatea de carbohidrați produsă și depozitată de către pom în diferite organe și țesuturi ci, mai cu seamă, cantitatea de zahăr stocată în fructele de cireș care reprezintă componenta principală a producției plantațiilor acestei specii pomice.

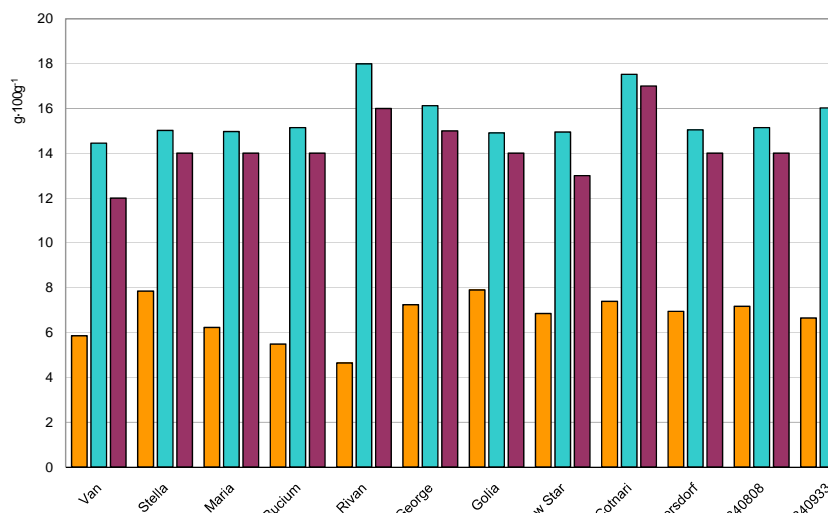


Figura 6. Dozarea glucidelor solubile din frunzele și fructele unor soiuri și hibrizi de cireș (*Prunus avium* L.)

Pentru a face o corelație între conținutul glucidelor solubile prezente în frunzele pomilor în perioada maturării fructelor și conținutul de glucide solubile din fructele ajunse la maturitate și pentru a pune în evidență ‘randamentul’ cu care pomii își depozitează rezervele de carbohidrați în fructe am introdus noțiunea de *indice glucidic fruct/frunză* prin care se exprimă conținutul glucidelor solubile din fructe raportat la conținutul glucidelor solubile din frunze. Astfel, cu cât indicele glucidic este mai mare, cu atât ‘randamentul’, pe care l-am menționat anterior, al pomului este mai mare. Din acest raport se poate observa că, pentru a avea fructe cu un conținut glucidic ridicat, nu este obligatoriu ca frunzele pomului să producă și ele o cantitate mai mare de glucide. Astfel, s-a constatat că hibridul de cireș H.C. 893705 la care, în frunze, s-a constatat cel mai mic conținut de glucide (3,78%) a avut un conținut ridicat (16%) de glucide în fructe, iar indicele glucidic fruct/frunză a fost de 4,2 (cel mai mare). Această situație indică un randament sporit de acumulare al carbohidraților în fructele acestui hibrid de cireș, crescându-le, astfel, valoarea lor energetică și nutritivă. În schimb, la soiul Golia cu cel mai crescut conținut de glucide solubile foliare (7,89%) indicele glucidic fruct/frunză a fost unul dintre cei mai scăzuți (1,8) și, respectiv, conținutul de glucide din fructe a fost, desemea, redus (14%).

Un alt parametru care a fost urmărit a fost conținutul de substanță uscată solubilă din suc fructelor și care a avut valori cuprinse între 14,45% la soiul Van și 17,94% la hibridul de cireș H.C. 893705. Acest parametru, la rândul său, reflectă conținutul de glucide solubile deoarece el crește și scade direct proporțional cu conținutul de glucide solubile din suc fructelor.

### **Activitatea III.3. Determinarea indicelui polifenolic și a conținutului total de polifenoli la fructe și frunze**

Deoarece cireșele sunt printre cele mai populare fructe de primăvară, acestea sunt consumate în stare proaspătă, iar în multe locuri, sunt chiar primele fructe proaspete ale sezonului. Este cunoscut faptul că cireșele conțin diferiți antioxidanți (Jakobek et al., 2007a,b;



Usenik et al., 2008). Majoritatea antioxidanților fenolici din cireșe sunt reprezentați de antociani, dar cireșele mai conțin și o cantitate semnificativă de acizi fenolici și flavonoli. Cei mai răspândiți acizi fenolici din cireșe sunt acizii hidroxicinamici (Jakobek et al., 2007a,b; Usenik et al., 2008). Dintre acizii hidroxicinamici cireșele conțin, în cea mai mare parte, acizii neoclorogenic și *p*-cumarilquinic (Kim et al., 2005). Deasemenea, au mai fost evidențiate cantități mici de acid chlorogenic (Kim et al., 2005) și acid feluric (Matilla et al., 2006). În cantități mici au mai fost întâlniți și acizi hidroxibenzoici (Matilla et al., 2006). S-a constatat că compușii fenolici au efecte pozitive asupra sănătății omului prin acțiunile lor antiinflamatoare și anticarcinogenică (Garcia-Closas et al., 1999; Kroon and Williamson, 1999; Mamani-Matsuda et al., 2006) și fac parte dintre compușii importanți ai nutriției omului (Usenik et al., 2008). Mai mult, s-a constatat că antioxidanții fenolici din cireșe au și acțiune protectivă asupra celulelor nervoase (Kim et al., 2005).

Este unanim acceptat faptul că o dietă bogată în fructe și vegetale reduc semnificativ riscul bolilor datorate stresului oxidativ cum ar fi boala coronariană, cancerul, atacurile cerebrale și demența. Aceste beneficii sunt atribuite, pe lângă alte substanțe active din plante, și polifenolilor din care fac parte pigmentii antocianici, flavan-3-olii, procianidinele, flavonol glicozidele, acizii fenolici și derivații acidului elagic (Ames and others 1993; Halliwell and others 1995; Hortog and others 1995; Porter and others 2001; Aviram and Fuhrman 2002; Bors and Michel 2002).

În prezent se cunosc deja majoritatea pigmenților antocianici din cireșe și vișine. La soiul Bing și alte soiuri de cireș au fost identificate: cianidin-3-rutinozida, cianidin-3-glucozida, peonidin-3-rutinozida, peonidin-3-glucozida și pelargonidin-3-rutinozida (Lynn and Luh 1964; Gao and Mazza 1995; Mozetic and others 2002). Acizii hidroxicinamici reprezintă un grup important de acizi polifenolici prezenți în cireșe. Schaller și Von Elbe (1970) au identificat în vișinele soiului Montmorency 6 izomeri ai acidului cafeoilquinic și 4 izomeri ai acidului *p*-cumaroilquinic, acidul cafeic și acidul *p*-cumaric. Acidul neoclorogenic și acidul 3'-*p*-cumaroilquinic au fost identificați în fructele de cireș (Gao and Mazza 1995; Friedrich and Lee 1998; Mozetic and others 2002). Flavonolii și flavonol glicozidele sunt o altă clasă importantă de polifenoli prezenți în cireșe. De asemenea, în cireșe și vișine, au fost identificate rutinozide și glucozide de quercetin și kaempferol (Schaller and Von Elbe 1970; Shrikhande and Francis 1973b; Henning and Herrmann 1980). Mai mult, Shrikhande și Francis (1973b) au raportat prezența quercetin-4'-glucozidei, kaempferol-3-ramnozidă-4'-galactozidei (tentative) și kaempferol-4'-glucozidei (tentative). Henning și Herrmann (1980) au izolat 3,4'-biglucozide de kaempferol și quercetină din cireșe. Friedrich și Lee (1998) au găsit flavonol epicatechina atât în cireșe cât și în vișine. Deși toate soiurile de cireș și vișin au o anumită cantitate de pigmenți antocianici în pielea fructului, conținutul acestora variază foarte mult (Chaovanalikit and Wrolstad 2003). Fructele unor soiuri conțin pigmenți și în pulpă cum este soiul Bing, iar la alte soiuri pulpa nu conține pigmenți ca de exemplu soiurile Royal Ann și Montmorency. Până în prezent s-au făcut puține studii în ce privește distribuțiile individuale ale claselor de fenoli și polifenoli în pielea, pulpă și sâmbure. Mai cu seamă sâmburii, fiind un produs secundar semnificativ în procesarea tehnologică a cireșelor, reprezintă o potențială sursă de antioxidanți polifenolici.



Unii dintre compușii fenolici sunt răspândiți în toată planta, iar alții sunt specifici numai anumitor organe ale acesteia. Unii se găsesc în plante în concentrații foarte mari, iar alții în concentrații foarte mici.

Compușii fenolici (antocianii) sunt produși secundari ai metabolismului. Din punct de vedere al structurii lor chimice, antocianii sunt glicozide ai polihidroxi și polimetoxi derivaților de 2-fenilbenzopiriliu sau săruri de flaviliu. Diferențele dintre antociani sunt date de numărul de grupe hidroxil, de gradul de metilare al acestor grupe, de natura și numărul de resturi de zaharuri atașate la moleculă și de poziția lor. Dintre toți antocianii prezenti în plante cel mai des întâlniți sunt: pelagonidina, cianidina, peonidina, delfinidina, petunidina, malvidina.

**Acizii fenolici** sunt combinații organice care conțin în moleculă grupe carboxil (-COOH) și grupe hidroxil (-OH), ultimele fiind legate de un nucleu aromatic. Acizii fenolici ce se găsesc în fructele de cireș pot fi grupați în două categorii și anume: acizi hidroxibenzoici (se găsesc în cantități foarte mici în fructele de cireș) și acizi hidroxicinamici (sunt polifenolii predominanți din fructele de cireș).

Acizii hidroxibenzoici, la rândul lor, pot deriva fie de la acidul *p*-hidroxibenzoic, fie de la acidul *o*-hidroxibenzoic.

**Substanțele tanante.** În categoria substanțelor tanante vegetale numite și taninuri, tananți, materii tanoide intră o serie de compuși organici care au proprietăți asemănătoare, cu toate că din punct de vedere chimic nu fac parte din aceeași clasă. Din seria de proprietăți se menționează: solubilitatea în apă, formarea unor compuși colorați cu diferite metale, capacitatea de a precipita proteinele.

Din punct de vedere chimic, taninurile sunt considerate ca polimeri ai unor compuși cu funcțiuni fenolice. Pentru ca aceștia să fie încadrați în grupa taninurilor este necesar ca greutatea lor moleculară să se situeze între 500 și 3000. Dacă este mai mică de 500 ele sunt absorbite de proteine iar dacă depășește 3000 sunt prea voluminoase pentru a se putea apropia de centrul activi ai proteinei.

**Taninurile hidrolizabile** sau pirogalolice sunt taninurile care prin hidroliză cu acizii minerali sau cu ajutorul unor enzime specifice dau o monoglucidă de obicei glucoza și acizii fenolici cum este acidul galic.

Dintre acizii care intră în compoziția taninurilor hidrolizabile dar care au fost găsiți și ca atare se amintesc acizii galic, digalic și elagic.

**Taninurile nehidrolizabile** sau catechinele numite și taninuri condensate, nu conțin zaharuri și nu pot fi transformate în produși mai simpli decât prin topire alcalină. Taninurile nehidrolizabile sunt constituite din derivați hidroxilați ai flavanului cunoscuți sub numele de flavanoli. Dintre flavanoli în taninurile nehidrolizabile, au fost identificate două grupe: catechinele și leucoantocianidinele.

Gama întregă de culori și nuanțe întâlnite la soiurile de cireș este dată de anumiți compuși fenolici, dintre care mai importanți sunt: antocianii și flavonolii. La maturarea fructelor, conținutul acestora în clorofilă scade, iar conținutul în pigmenți coloranți crește.

**Antocianii** sunt heterozide care în funcție de pH au culoarea roșie sau albastră. Prin hidroliza antocianilor rezultă una sau două molecule de glucide și un aglicon numit antocianidină care este de fapt colorantul propriu-zis.

Diversitatea mare a culorilor, la fructele soiurilor de cireș este dată de structura chimică a antocianidelor, de natura și numărul moleculelor de glucide ale glicozizilor; de combinațiile cu diferite metale (Al și Fe) cât și de pH-ul mediului. La majoritatea soiurilor de cireș, antocianii se acumulează în pielețe, cu excepția soiurilor la care apar și în pulpă. Acumularea antocianilor este rapidă în perioada de maturare a fructelor.

Antocianii sunt glucozide naturale care în plante sunt reprezentați de șase compuși: pelargonidină, cianidină, peonidină, delphinidină, petunidină, malvidină. Antocianii sunt cele mai polarizante substanțe din toate grupele compușilor fenolic naturali. Ele se întâlnesc în formă de săruri sau complexe cu metale, sunt solubile în apă, alcoolii și soluții diluate de acizi în apă. Antocianii pot fi sedimentați din soluțiile de alcool cu ajutorul solvenților organici (eter, acetat de plumb etc). Antocianii pot fi cristalizați comparativ ușor în formă de cloruri sau săruri de acid picric.

### Material și metodă

Determinarea indicelui polifenolic total (I.P.T.) și conținutul total de compuși fenolici din frunzele și fructele soiurilor Van, Stella, Maria, Bucium, Rivan, George, Golia, New Star, Boambe de Cotnari, Germersdorf și hibrizilor de cireș H.C. 840808, H.C. 840933, H.C. 871616, H.C. 893705 a fost realizată prin metoda spectrofotometrică

### Indicele polifenolic total (I.P.T.) și conținutul total de compuși fenolici

În ceea ce privește conținutul total de compuși fenolici la soiurile Van, Stella, Maria, Bucium, Rivan, George, Golia, New Star, Boambe de Cotnari, Germersdorf și hibrizii de cireș H.C. 840808, H.C. 840933, H.C. 871616, H.C. 893705 (tabelul nr. 3 și figura 9) acesta a fost determinat la fructele și frunzele acestor soiuri și hibrizi.

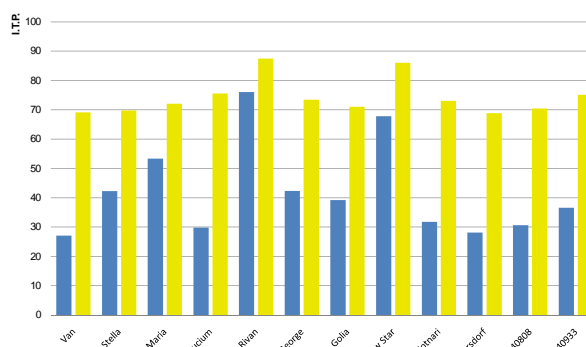
Tabelul nr. 3.

Indicele polifenolic total (I.P.T.) și conținutul total de compuși fenolici din fructele și frunzele unor soiuri și hibrizi de cires (*Prunus avium* L.)

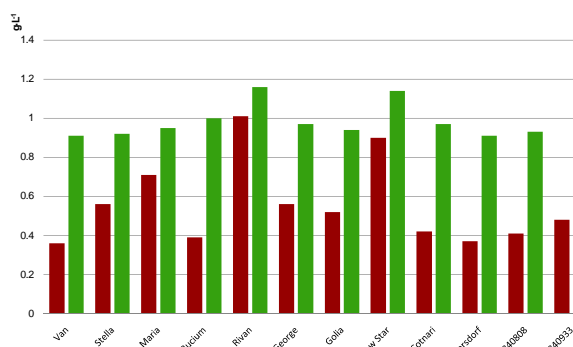
Soiuri de cires	Indicele polifenolic total (I.P.T.)		Conținutul de compuși fenolici (g·L <sup>-1</sup> )		Indicele raportului de compuși fenolici fruct/frunză
	Fructe	Frunze	Fructe	Frunze	
Van	27.2	69.2	0.36	0.91	0.4
Stella	42.3	69.8	0.56	0.92	0.6
Maria	53.4	72.1	0.71	0.95	0.7
Bucium	29.9	75.6	0.39	1.00	0.4
Rivan	76.1	87.5	1.01	1.16	0.9
George	42.4	73.5	0.56	0.97	0.6
Golia	39.3	71.1	0.52	0.94	0.6
New Star	67.9	86.1	0.90	1.14	0.8
Boambe de Cotnari	31.8	73.1	0.42	0.97	0.4
Germersdorf	28.2	68.9	0.37	0.91	0.4
H.C. 840808	30.7	70.5	0.41	0.93	0.4
H.C. 840933	36.6	75.2	0.48	0.99	0.5
H.C. 871616	20.3	68.7	0.27	0.92	0.3
H.C. 893705	40.8	80.4	0.54	1.06	0.5

Cel mai scăzut conținut de polifenoli a fost înregistrat la hibridul de cireș H.C. 871616 care a fost de  $0.27\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  având un indice fruct/frunză de 0.3 (Indicele reprezintă raportul dintre compușii fenolici totali din fructele și frunzele de cireș. Acest indice ne arată cât din compușii analizați se regăsesc în produsul de interes, adică în fructe față frunze, organul în care are loc sinteza majorității compușilor macromoleculari, printre care și a compușilor fenolici). La polul opus, cu cel mai mare conținut de compuși polifenolici în suc de fructe, se află soiul Rivan cu  $1.01\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  și un indice de acumulare în fructe comparativ cu frunzele de 0.9.

Dintre soiurile care au avut valori maxime de polifenoli în frunze sunt: Rivan cu  $1.16\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , New Star cu  $1.14\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , hibridul de cireș H.C. 893705 cu  $1.06\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  și soiul Bucium cu  $1.00\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Însă nu toate soiurile au prezentat și un indice crescut al raportului fruct/frunză. Dacă soiul Rivan a avut un raport de 0.9 și New Star de 0.8, la soiul Bucium și hibridul H.C. 893705 raportul a fost de numai 0.4 respectiv 0.5. Din acest punct de vedere putem spune că cu cât soiurile prezintă un indice al raportului fruct/frunză mai crescut cu atât acesta „lucrează” mai mult pentru fructe și este mai valoros din punct de vedere al calității nutritive ale fructelor.



**Figura 8. Indicele polifenolic total din fructele și frunzele unor soiuri și hibrizi de cires (*Prunus avium* L.)**



**Figura 9. Conținutul total de compuși fenolici din fructele și frunzele unor soiuri și hibrizi de cires (*Prunus avium* L.)**

#### **Activitatea III.4. Dozarea cantității de vitamine și minerale din fructe și frunze**

Dintre vitamine am ales să dozăm conținutul de vitamină C cunoscând-se rolul important al acesteia în menținerea stării generale de sănătate a omului. Mai mult, s-a constatat că majoritatea animalelor își pot sintetiza vitamina C proprie, însă unele, printre care și omul, sunt lipsite de această proprietate.

Vitamina C (acidul ascorbic) este o vitamină hidrosolubilă necesară organismului în anumite scopuri. Ca participant în hidroxilare, vitamina C este necesară în sinteza colagenului. Deasemenea, vitamina C este necesară pentru sinteza dopaminei, noradrenalinei și adrenalinei din sistemul nervos și glandele suprarenale. Lipsa acidului ascorbic din dieta zilnică duce la o boală numită scorbut, ce este o formă a avitaminozei caracterizată prin căderea dinților, fragilitate capilară, deteriorarea stării de sănătate, iminutate scăzută și anemie generală. Cantitatea zilnică necesară pentru un om este de 50 – 150 mg vitamină C.

Vitamina C este un antioxidant important ce determină prevenirea cancerului, bolilor cardiace, stresului, luând parte la procesele chimice celulare producătoare de energie. Deasemenea, vitamina C ajută la menținerea sistemului imunitar, neutralizarea poluanților, producerea de anticorpi și la creșterea capacității de absorbție a substanțelor nutritive (inclusiv fierul) din intestin.

### **Materialul și metoda de lucru**

Analizele privind conținutul de vitamină C și conținutul total de azot au fost realizate la 10 soiuri de cireș *Prunus avium* L. (Van, Stella, Maria, Bucium, Rivan, George, Golia, New Star, Boambe de Cotnari, Germersdorf) și 4 hibrizi de cireș (H.C. 840808, H.C. 840933, H.C. 871616, H.C. 893705) din colecția de soiuri a Stațiunii de Cercetare – Dezvoltare pentru Pomicultură Iași.

Conținutul de vitamină C a fost realizat prin metoda titrimetrică cu soluție de bromat/bromură de potasiu în mediu acid.

Conținutul total de azot, la frunzele și fructele soiurilor și hibrizilor de cireș luați în studiu, a fost determinat prin metoda Kjeldahl, iar conținutul total de minerale prin calcinare. Proteina brută a fost dedusă din conținutul de azot.

### **Conținutul de vitamină C**

Rezultatele obținute de noi privind conținutul de vitamină C din fructele și frunzele soiurilor Van, Stella, Maria, Bucium, Rivan, George, Golia, New Star, Boambe de Cotnari, Germersdorf și hibrizilor de cireș H.C. 840808, H.C. 840933, H.C. 871616, H.C. 893705 (tabelul nr. 4 și figura 10) au scos în evidență valori semnificative ale conținutului acestei vitamine atât în pulpa pructelor mature proaspete, cât și în frunzele pomilor din perioada recoltării fructelor. La două soiuri Stella și Germersdorf a fost înregistrată valoarea minimă a conținutului de acid ascorbic în pulpa fructului de 14mg per 100g produs. Valoarea maximă de 19mg per 100g produs de vitamină C a fost constatată la soiul Rivan și hibridul H.C. 840933. Analizele efectuate la frunzele pomilor din timpul recoltării probelor au pus în evidență valori ale conținutului de vitamină C cuprinse între 89mg acid ascorbic per 100g de frunză la soiul George și 109mg acid ascorbic per 100g frunză la soiul Golia.

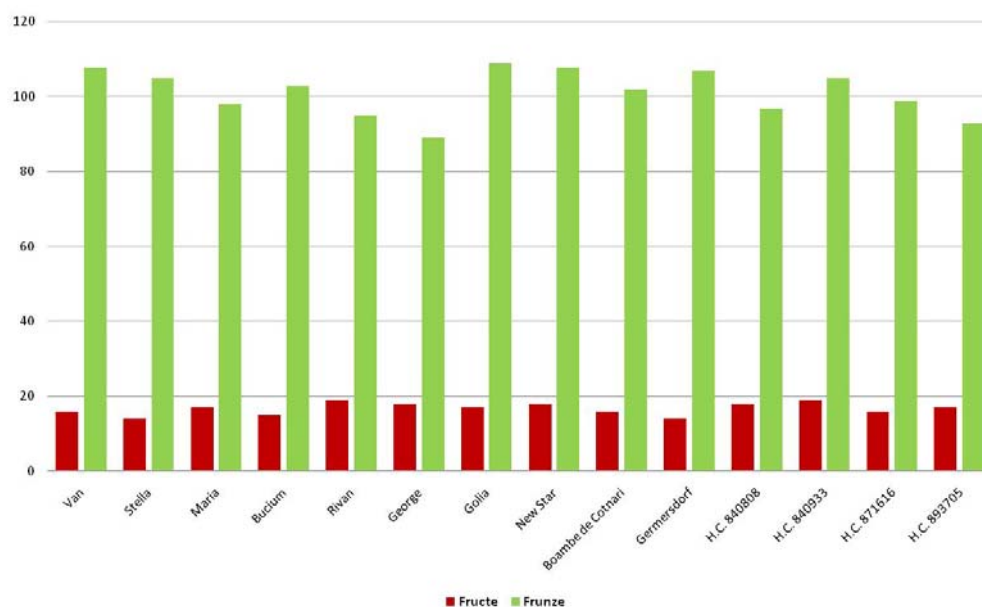
Raportul fruct/frunză a conținutului de vitamină C (tabelul nr. 4) a fost de 0,1 la soiurile Van, Stella, Bucium și Germersdorf. La celelalte soiuri (Maria, Rivan, George, Golia, New Star, Boambe de Cotnari) și hibrizi (H.C. 840808, H.C. 840933, H.C. 871616, H.C. 893705) raportul fruct/frunză a înregistrat o valoare de 0,2. Însă nu s-a constatat corelație pozitivă între conținutul ridicat de acid ascorbic din frunze cu acela din fructe.

**Tabelul nr. 4.**

**Conținutul de vitamină C din frunzele și fructele unor soiuri și hibrizi de cireș (*Prunus avium* L.)**

Soiuri de cires	Conținutul de vitamină C (mg·100g <sup>-1</sup> )		Raportul fruct/frunză
	Fructe	Frunze	
Van	16	108	0,1
Stella	14	105	0,1
Maria	17	98	0,2
Bucium	15	103	0,1
Rivan	19	95	0,2
George	18	89	0,2
Golia	17	109	0,2
New Star	18	108	0,2
Boambe de Cotnari	16	102	0,2
Germersdorf	14	107	0,1
H.C. 840808	18	97	0,2
H.C. 840933	19	105	0,2
H.C. 871616	16	99	0,2
H.C. 893705	17	93	0,2

Conținutul ridicat de vitamină C din pulpa fructelor soiurilor și hibrizilor de cireș luați în studiu determină creșterea valorii nutritive a fructelor acestor soiuri și hibrizi. Acest fapt



**Figura 10. Conținutul de vitamină C din fructele și frunzele unor soiuri și hibrizi de cires (*Prunus avium* L.)**

reprezintă un motiv în plus în determinarea continuării experimentelor în vederea obținerii de noi hibrizi, cu potențial de însumare a caracterelor urmărite, prin încrucișarea acestor soiuri între ele.

### **Conținutul de azot, proteină brută și minerale totale**

Azotul (N) este unul dintre elementele nutritive cu acțiune puternic limitativă asupra producției agricole mondiale. De asemenea, acesta este elementul nutritiv ce se aplică în cantități mari în majoritatea culturilor anuale (Huber and Thompson, 2007). Sistemele agricole ce se bazează foarte mult pe rezervele de N din sol, pentru suplinirea necesităților plantelor, nu pot fi eficiente pentru o perioadă lungă de timp în ce privește randamentul recoltei (Stevenson, 1982). Excepție fac leguminoasele care au capacitatea de a fixa N necesar creșterii și dezvoltării lor. Deobicei, azotul este suplimentat prin fertilizări și este obligatoriu pentru toate tipurile de sol (Clark, 1982). În fiecare an, pentru a spori cantitatea recoltelor pe plan mondial, se aplică peste 80 milioane tone de substanțe fertilizante cu N (Epstein and Bloom, 2005). Principalele motive ale deficienței azotului din sol sunt cantitățile mari absorbite de către plantele de cultură comparativ cu alte macroelemente (cu excepția K la unele culturi cum ar fi acelea de orez) mai cu seamă în boabe ori semințe. Azotul din sol se mai poate pierde ca urmare a epuizării solului, denitrificării, volatilizării, eroziunii sau alunecărilor de teren. Mai mult, azotul este imobilizat de către microorganismele solului și resturile vegetale nedescompuse care cauzează deficiențe temporare de N. Azotul este cunoscut de mai bine de un secol ca fiind unul dintre elementele esențiale necesare creșterii și dezvoltării plantelor. Însă, abea în ultima jumătate a secolului XX au apărut progrese semnificative în tehnologiile de fertilizare cu azot.

### ***Importanța și simptomele carenței de azot***

Azotul are cea mai mare influență asupra creșterii și productivității plantelor comparativ cu alți nutrienți. Acesta deține rolul principal în multe procese biologice și fiziologice ale plantelor. Azotul este un component al multor compuși organici principali de la proteine și până la acizi nucleici. Acesta intră în compoziția moleculei de clorofilă care joacă un rol important în fotosinteza plantelor. Multe enzime sunt proteice de aceea N detine rolul cheie în multe reacții metabolice. De asemenea, azotul este un constituent al peretelui celular. Plantele cu deficiență de azot cresc mai încet, iar frunzele lor sunt mai mici. De asemenea, deficiența de azot determină reducerea indicelui suprafeței foliare, scăderea eficienței utilizării radiațiilor solare și reducerea activității fotosintetice a plantelor (Muchow, 1988; Sinclair and Horie, 1989; Fageria and Baligar, 2005a). În condiții saturate de lumină s-a constatat o corelație pozitivă semnificativă între rata fotosintezei și conținutul total de azot din frunze (Evans, 1989; Poorter and Evans, 1998). Motivul acestei relații puternice este conținutul mare de azot organic foliar (până la 75%) prezent în cloroplaste din care majoritatea este antrenat în mecanismul fotosintetic (Evans și Seemann, 1989; Poorter și Evans, 1998). În condiții deficitare de azot semințele sunt mici și recoltele culturilor vegetale reduse, acestea fiind direct influențate de cantitatea de N disponibil. Simptomele deficienței de azot sunt asociate cu reducerea înălțimii plantelor, cloroza frunzelor și reducerea vigoriei lăstarilor. De asemenea, deficiența de azot reduce creșterea rădăcinilor influențând negativ absorbția apei și elementelor nutritive de către plantă. Plantele cu deficiență de azot au mai puțini perișori absorbantți comparativ cu plantele fertilizate cu N (Fageria, 1992). Azotul este un nutrient mobil în plante, iar simptomele deficienței sale afectează, în primul rând, frunzele mici sau pe acele bătrâne. Simptomele deficienței de azot apar mai întâi în vârful și pe

marginile frunzelor. În cazul deficiențelor mai severe întreaga suprafață foliară se îngălbenesc și se usucă. Observația este cea mai ieftină metodă de diagnoză a carenței de azot la plantele de cultură. Cu toate acestea, această tehnică necesită multă experiență din partea observatorului deoarece simptomele carenței de azot pot fi confundate cu probleme cauzate de secetă, infestări cu insecte și patogeni, acțiunea erbicidelor, salinitatea și aciditatea solului, sau drenare insuficientă (Fageria and Baligar, 2005b). Uneori plantele pot fi la limita deficienței față de un anumit nutrient. În această situație nu există simptome vizibile, însă plantele nu mai produc la capacitatea lor obișnuită. Această condiție este denumită frecvent „foame ascunsă”. În mod normal, simptomele deficienței se manifestă pe o suprafață de plantație mai mare nu doar la o singură plantă. Plantele cu deficiențe minerale, de obicei, sunt mai susceptibile la boli și dăunători (Clark, 1982).

### **Concentrarea azotului**

Concentrația este definită ca și cantitate asimilată per unitatea de substanță uscată. În general, concentrația se exprimă în procente,  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  sau  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ . Concentrația este o proprietate chimică mai stabilă decât asimilarea deoarece se raportează la substanța uscată. Concentrația nutrienților din țesuturile plantelor variază în funcție de țesut (frunze, rădăcini sau întreaga plantă), vârsta plantei, conținutul de substanță uscată, genotip, factorii de mediu, etc (Fageria et al., 1997a; Fageria, 1992; Fageria and Baligar, 2005b; Fageria et al., 2006). Chiar dacă concentrația nutrienților este influențată de mai mulți factori, acest parametru este mult mai stabil decât analiza de sol pentru a identifica starea nutrițională a plantei. Plantele au o abilitate remarcabilă de a reglementa asimilarea nutrienților în funcție de cererile lor de creștere (Fageria and Baligar, 2005a). Variații semnificative ale concentrației nutrienților din mediul de creștere induc mici modificări ale concentrației nutrienților din țesuturile plantei (Smith, 1986; Fageria and Baligar, 2005a). Așadar, putem spune că, în țesuturile plantelor, concentrațiile celor mai mulți nutrienți sunt limitate la intervale destul de înguste (Fageria and Baligar, 2005a). Concentrația este folosită pentru a determina deficiența, suficiența ori toxicitatea nutrienților din țesuturile plantelor. Pentru interpretarea rezultatelor analizelor plantelor, a fost dezvoltat un concept de *concentrație critică a nutrientului* Macy (1936), care a fost extins de Ulrich (1952). Acest concept este folosit și astăzi în interpretarea rezultatelor analizelor plantelor pentru diagnosticarea eventualelor dereglări nutriționale. Concentrația critică a nutrientului este, de obicei, reprezentat printr-un singur punct pe curbura graficului recoltă-nutrient-concentrație în care concentrația nutrientului trece din ‘starea deficitară’ în ‘starea suficientă’. Concentrația critică a nutrientului a fost definită în mai multe moduri:

- 1) concentrație ce este deficitară doar pentru creșterea maximă (Fageria and Baligar, 2005b);
- 2) punctul în care creșterea este mai mică cu 10% decât maximum (Ulrich, 1976);
- 3) concentrația la care creșterea plantelor încetinește (Ulrich, 1952);
- 4) cantitatea minimă de nutrient care susține recolta maximă (Fageria and Baligar, 2005b).

Definițiile de mai sus sunt asemănătoare dar nu identice. Este cunoscut faptul că există o corelație pozitivă între concentrația nutrientului și randamentul acestei culturi (Fageria et al., 1997a; Fageria and Baligar, 2005b).



În continuare, făcând o analiză a rezultatelor de laborator referitoare la conținutul total de azot, am constatat că există diferențe semnificative în ceea ce privește conținutul de azot din frunzele și fructele soiurilor și hibridilor de cireș luați în studiu. Astfel, dacă ne uităm în *tabelul 5* la analizele făcute la frunze, vedem că la soiul New Star s-a înregistrat concentrația cea mai redusă de azot, din tot lotul experimental, cu o valoare de 0.68% N S.U. (substanță uscată). La polul opus se află soiul George cu valoarea de 2.06% N S.U. Mai mult, constatăm că din 10 soiuri de cireș alese 5 au avut valori ale conținutului total de azot din frunze sub 1% (Van, Golia, New Star, Boambe de Cotnari și Germersdorf) și altele 5 soiuri au avut valori peste 1% (Stella, Maria, Bucium, Rivan și George). În schimb, toți cei 4 hibridi de cireș au avut peste 1% azot în frunze (H.C. 840808, H.C. 840933, H.C. 871616, H.C. 893705).

Tabelul nr. 5

**Conținutul de azot total și proteina brută din fructele și frunzele unor soiuri de cireș (*Prunus avium* L.)**

Soiuri de cireș	Azot total (g·100g <sup>-1</sup> S.U.)		Raportul azot total fruct/frunză	Proteina brută (g·100g <sup>-1</sup> S.U.)		Raportul proteină brută fruct/frunză
	Frunze	Fructe		Frunze	Fructe	
Van	0.91	0.66	0.7	5.71	4.13	0.7
Stella	1.23	0.77	0.6	7.23	4.82	0.6
Maria	1.05	0.62	0.6	6.35	3.89	0.6
Bucium	1.52	0.99	0.7	9.62	6.18	0.7
Rivan	1.47	0.87	0.6	4.87	2.71	0.3
George	2.06	1.17	0.6	7.46	4.34	0.3
Golia	0.94	0.62	0.7	5.54	3.88	0.7
New Star	0.68	0.41	0.6	3.78	2.54	0.6
Boambe de Cotnari	0.92	0.46	0.5	5.42	2.89	0.5
Germersdorf	0.94	0.67	0.7	5.44	4.18	0.7
H.C. 840808	1.06	0.62	0.6	6.16	3.87	0.6
H.C. 840933	1.41	0.85	0.6	8.51	5.31	0.6
H.C. 871616	1.44	0.93	0.6	8.74	5.81	0.6
H.C. 893705	1.28	0.78	0.6	7.28	4.86	0.6

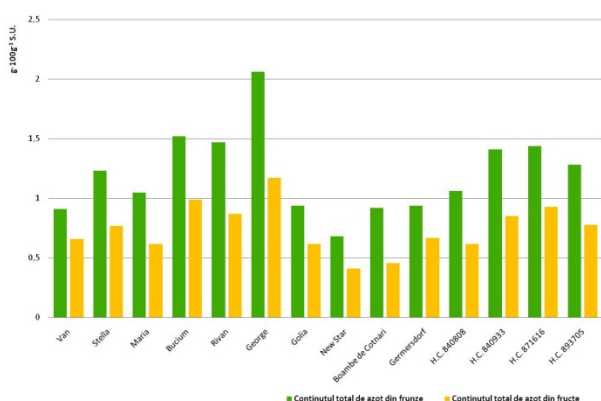
S.U. – substanța uscată

În ce privește conținutul total de azot din fructe, valorile minime și maxime înregistrate scot în evidență aceiași soiuri și anume: New Star cu un conținut de 0.41% N S.U. și George cu 1.17% N S.U., de altfel și singura valoare mai mare de 1% înregistrată. În cazul fructelor de cireș pragul de diferențiere între soiuri coboară la 0.5% și, astfel, putem spune avem doar 2 soiuri cu valori sub 0.5% N per unitatea de substanță uscată (New Star și Boambe de Cotnari) și 8 cu valori peste 0.5% N (Van, Stella, Maria, Bucium, Rivan, George, Golia și Germersdorf). Hibridii de cireș H.C. 840808, H.C. 840933, H.C. 871616, H.C. 893705 ca și în cazul conținutului de azot foliar au avut valori peste 0.5% N per unitatea de substanță uscată.

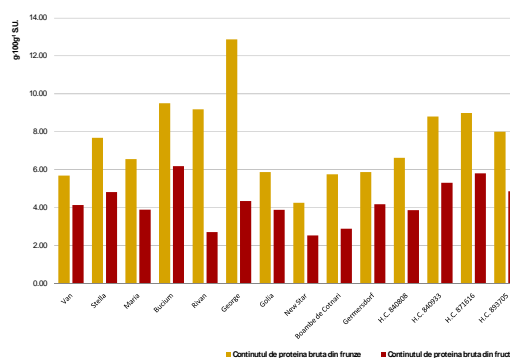
Dacă aruncăm o privire asupra *figurii 11* observăm că există o oarecare corelare între conținutul de azot din frunze și acela din fructe. Soiurile care au un conținut de N mai mare în frunze au, de asemenea, un conținut de N mai ridicat și în fructe. Pentru a prezenta mai clar distribuția azotului între aceste două organe ale pomilor am făcut în raport între concentrația

azotului din frunze și acela din fructe (tabelul 5) și am obținut un indice care reflectă această distribuție. Cu cât valoarea indicelui este mai mare, cu atât o cantitate mai mare de azot se regăsește în frunze față de fructe și invers. Din acest punct de vedere, soiurile care „distribuie” cele mai mici cantități de N spre frunze sunt soiurile Van, Bucium, Golia și Germersdorf cu un raport fruct/frunză de 0.7, iar soiul Boambe de Cotnari, din contra, „concentrează” în frunze de două ori mai mult azot având un indice al raportului fruct/frunză de 0.5.

Cunoscându-se rolul important pe care îl are azotul asupra creșterii și productivității plantelor am fi tentați să spunem că cu cât concentrația azotului în frunzele și fructele pomilor este mai mare cu atât aceștia se dezvoltă mai viguros și au o productivitate mai ridicată. Însă, concentrațiile diferite de azot la diferite soiuri de cireș pot indica și cerințe diferite pentru acest element. Această, din urmă explicație pare să fie mai plauzibilă și datorită faptului că soiurile analizate de noi fac parte din Colecția Națională de Cireș a S.C.D.P. Iași care se extinde pe o suprafață de teren restrânsă unde soiurile sunt reprezentate de câțiva indivizi distribuiți intercalat, fapt ce exclude diferențele pedologice ale rezervelor de azot din sol. Cu toate acestea un lucru este cert, cantități mai mari de azot în fructele de cireș determină, la rândul său, un aport crescut de azot la consumatori, sporindu-le astfel valoarea lor nutritivă.



**Figura 11. Conținutul total de azot din fructele și frunzele unor soiuri și hibrizi de cireș (*Prunus avium* L.)**



**Figura 12. Conținutul de proteină brută din fructele și frunzele unor soiuri și hibrizi de cireș (*Prunus avium* L.)**

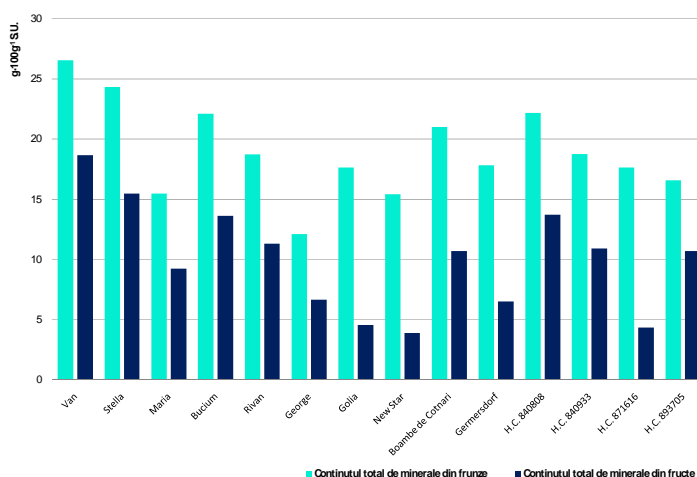
În ce privește conținutul total de proteină brută (figura 12) aceasta variază și ea în funcție de conținutul total de azot și reprezintă, de asemenea, un parametru de calitate al fructelor. Dacă, însă, valorile cantitative de proteină brută diferă între soiuri atât la frunze câtși la fructe, indicele raportului fructe/frunze este același ca în cazul conținutului total de azot.

Un alt parametru care a fost urmărit în acest set de analize a fost conținutul total de minerale din frunzele și fructele soiurilor și hibrizilor de cireș. După cum se poate observa din *tabelul nr. 6* și *figura 13* soiurile diferă vizibil între ele și prin acest parametru. În cazul conținutului total de minerale ( cenușa brută) din frunze variațiile sunt de maxim 2.19 ori între conținutul cel mai ridicat, înregistrat la soiul Van (26.55% din S.U.) și conținutul cel mai redus (12.12% din S.U.) înregistrat la soiul Bucium.

Tabelul nr. 6.

**Conținutul total de minerale din frunzele și fructele unor soiuri și hibrizi de cireș (*Prunus avium* L.)**

Soiuri de cires	Total minerale (g·100g <sup>-1</sup> S.U.)		Raportul fruct/frunză
	Frunze	Fructe	
Van	26.55	18.66	0.7
Stella	24.32	15.47	0.6
Maria	15.48	9.23	0.6
Bucium	22.12	13.63	0.6
Rivan	18.73	11.32	0.6
George	12.12	6.65	0.5
Golia	17.65	4.57	0.3
New Star	15.43	3.90	0.3
Boambe de Cotnari	21.01	10.70	0.5
Germersdorf	17.84	6.52	0.4
H.C. 840808	22.18	13.73	0.6
H.C. 840933	18.75	10.91	0.6
H.C. 871616	17.65	4.35	0.2
H.C. 893705	16.59	10.69	0.6


**Figura 13. Conținutul total de minerale din fructele și frunzele unor soiuri și hibrizi de cireș (*Prunus avium* L.)**

În schimb, la fructe valorile se dispersează pe un domeniu mult mai larg. Conținutul maxim (soiul Van cu 18.66% din S.U.) este de 4.78 ori mai mare decât valoarea minimă înregistrată (soiul New Star cu 3.90% din S.U.). Dacă luăm în considerație raportul conținutului de minerale din fructe raportat la conținutul din frunze (tabelul nr. 6) constatăm un minim de 0.2 la hibridul de cireș H.C. 871616 și un maxim de 0.7 la soiul Van. Deasemenea, din 10 soiuri și 4 hibrizi analizați 6 au avut valori de 0.5 și mai mici iar 8 au înregistrat valori mai mari de 0.5.

### Activitatea III.5. Determinarea acidității fructelor și frunzelor

Aciditatea titrabilă a sucului de fructe, maceratului de frunze, etc măsoară concentrația ionilor de hidrogen titrabili ce sunt conținuți în probele de analizat, prin neutralizarea cu o soluție de bază puternică la pH fix. Valoarea sa cuprinde toate substanțele de natură acidă cum ar fi: ioni de hidrogen liberi, acizi organici, săruri acide și cationi. Deoarece acidul organic este componentul principal din probă care reacționează cu soluția bazică, aciditatea titrabilă este exprimată ca g/L sau g/100 mL din acidul principal. În fructe, de obicei, predomină fie acidul citric, fie acidul malic, sau ambii.

#### Materialul și metoda de lucru

Analizele privind aciditatea totală a fost realizate la 10 soiuri de cireș *Prunus avium* L. (Van, Stella, Maria, Bucium, Rivan, George, Golia, New Star, Boambe de Cotnari, Germersdorf) și 4 hibrizi de cireș (H.C. 840808, H.C. 840933, H.C. 871616, H.C. 893705) din colecția de soiuri a Stațiunii de Cercetare – Dezvoltare pentru Pomicultură Iași.

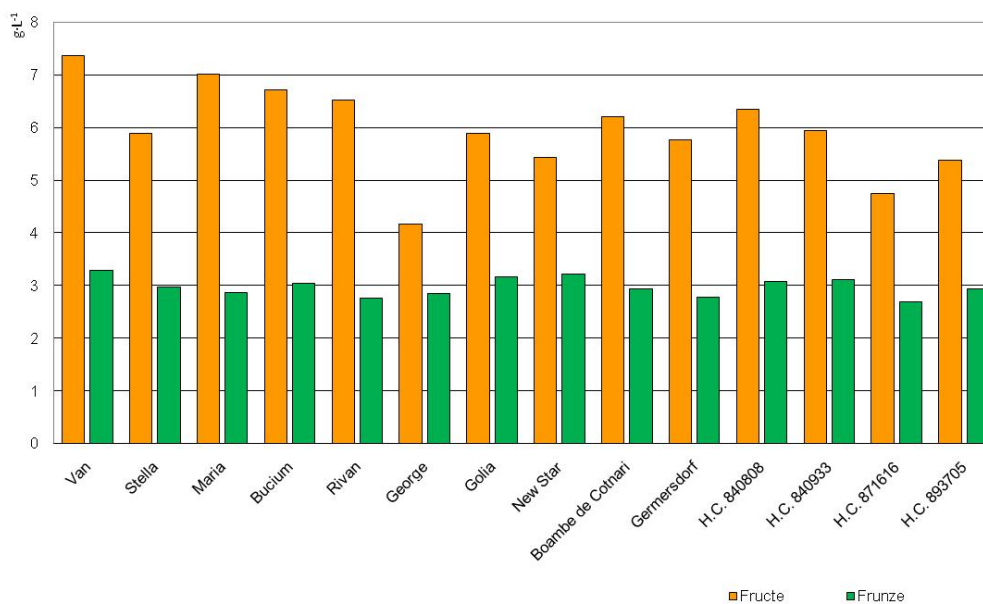
Aciditatea totală a probelor de analizat s-a realizat prin metoda *potențiomtrică*. Probele de suc și macerat diluat se titrează cu o soluție de hidroxid (sodiu sau potasiu) până ajunge la pH 7, determinat potențiomtric. În prealabil se îndepărtează bioxidul de carbon din probă.

**Tabelul nr. 7.**  
Aciditatea totală din fructele și frunzele unor soiuri și hibrizi de cires (*Prunus avium* L.)

Soiuri de cires	Aciditatea totală (g·L <sup>-1</sup> C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> )		Raportul aciditate fruct/frunză
	Fructe	Frunze	
Van	7.36	3.28	2,2
Stella	5.89	2.98	2,0
Maria	7.01	2.86	2,5
Bucium	6.72	3.05	2,2
Rivan	6.53	2.76	2,4
George	4.16	2.85	1,5
Golia	5.89	3.16	1,9
New Star	5.44	3.22	1,7
Boambe de Cotnari	6.21	2.94	2,1
Germersdorf	5.76	2.78	2,1
H.C. 840808	6.34	3.08	2,1
H.C. 840933	5.95	3.12	1,9
H.C. 871616	4.74	2.69	1,8
H.C. 893705	5.38	2.93	1,8

Valoarea raportului glucide totale/aciditate titrabilă poate constitui un indicator pentru aprecierea calității gustative a produselor horticole. În unele țări acesta este un indicator de calitate standardizat.

Aciditatea totală a fructelor și frunzelor soiurilor și hibrizilor a fost exprimată în g·L<sup>-1</sup> acid citric (C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>). Fructele au prezentat valori ale acidității cuprinse între 4.16g·L<sup>-1</sup> C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub> la soiul George și 7.36g·L<sup>-1</sup> C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub> la soiul Van.



**Figura 14. Aciditatea totală din fructele și frunzele unor soiuri și hibrizi de cires (*Prunus avium* L.) exprimată în g·L<sup>-1</sup> acid citric (C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>)**

Frunzele au prezentat valori mult mai reduse ale conținutului total de acizi organici, ioni de hidrogen liberi, săruri acide și cationi. Astfel, valoarea acidității totale minime a fost înregistrat la hibridul H.C. 871616 având valoarea de 2.69g·L<sup>-1</sup> C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>, iar maximum a fost la soiul Van fiind de 7.36g·L<sup>-1</sup> C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>.

Diferențele dintre valorile acidității titrabile (indirect ale pH) la fructele și frunzele soiurilor și hibrizilor de cireș pot fi explicate prin diferențele genotipice dintre soiuri în funcție de condițiile mediului înconjurător. Majoritatea cercetătorilor susțin că diferențele dintre valorile acidității titrabile la cireșe sunt determinate mai mult de genotip decât de condițiile ecologice și procedeele de cultură aplicate care erau aplicate unifm.

## CONCLUZII

1. Rezultatele obținute în urma acestor investigații sunt utile pentru cunoașterea, conservarea și utilizarea eficientă a resursei genetice de *Prunus avium* L. Aceste rezultate au pus în evidență diferențe genetice, fiziologice și biochimice semnificative între soiurile și hibrizii de cireș luați în studiu.
2. La toate soiurile și hibrizii ale speciei *Prunus avium* L., care fac obiectul studiului au fost efectuate lucrările curente de întreținere conform fișelor tehnologice de cultură, respectiv tăieri de întreținere a pomilor, ierbicidare pe rândul de pomi, tratamente fitosanitare făcute la avertizare cu insectofungicite, cosiri mecanice ale ierbii pe interval, recoltat de probe și analiza acestora.
3. Condițiile climatice ale anului 2009 nu au favorizat apariția cu frecvență mare a principalelor boli specifice culturii cireșului: *Monilia laxa* (monilioza), *Monilia frutigena* (monilioza fructelor) și *Coccomyces hiemalis* (antracnoza).
4. Cea mai mare cantitate de ADN a fost obținută prin metoda SDS-CH3COOK dar cu o cantitate foarte mare de impurități, aspect confirmat de analiza gelului. Rapoartele 260/280 și 260/230 indică gradul de contaminare cu proteine, respectiv fenoli și alți compuși organici. Cu cât aceste rapoarte sunt mai mari, cu atât este mai mare concentrația de ADN iar când aceste rapoarte depășesc valoarea de 1,6, se poate vorbi de puritate mare. Ca rezultat al analizei gelurilor, s-a stabilit că protocolul SDS-CH3COOK a furnizat cea mai mare cantitate de ADN, urmat de cel în care s-a folosit NaCl și cloroform+NaCl.
5. Au fost identificați 12 primeri RAPD și 10 enzime de restricție care pot furniza informațiile necesare pentru identificarea și caracterizarea pe baze moleculare a varietăților, soiurilor și hibrizilor de cireș. Eficiența cea mai mare ca acțiune individuală s-a constatat în cazul enzimei Tsp509I, care induce apariția a 16 fragmente. Referitor la acțiunea însumată a două enzime, eficiența cea mai mare s-a constatat în cazul enzimelor FatI+Tsp509I, care au determinat apariția a 22 fragmente.
6. Conținutului de pigmenți asimilatori la soiurile și hibrizii de cireș luați în studiu au scos în evidență cantități mai ridicate de clorofila *b* și pigmenți carotenoidici comparativ cu datele menționate în literatura de specialitate. Acest fapt s-ar datora unui proces de fotosinteză mai intens și pune în evidență o capacitate mai mare de captare a radiațiilor luminoase de către frunzele soiurilor și hibrizilor de cireș analizați.
7. Rezultatele analizelor efectuate la soiurile și hibrizii de cireș au scos în evidență diferențe atât ale valorilor conținutului de glucide solubile prezente în frunzele și fructele soiurilor și hibrizilor de cireș luați în studiu cât și un indice diferit al raportului glucidelor solubile din fructe/glucide solubile din frunze. Deasemenea, am constatat diferențe destul de evidente ale conținutului de substanță uscată solubilă din sucul fructelor acestor soiuri și hibrizi. Aceste variații se datorează particularităților genetice ale soiurilor.

8. În ceea ce privește conținutul total de compuși fenolici valoarea minimă a fost înregistrată la hibridul de cireș H.C. 871616 care a fost de  $0.27\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  având un indice fruct/frunză de 0.3 La polul opus, cu cel mai mare conținut de compuși polifenolici în sucul de fructe, se află soiul Rivan cu  $1.01\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  și un indice de acumulare în fructe comparativ cu frunzele de 0.9.
9. Rezultatele obținute de noi privind conținutul de vitamină C din fructele și frunzele soiurilor și hibrizilor de cireș au scos în evidență valori semnificative ale conținutului acestei vitamine atât în pulpa pructelor mature proaspete, cât și în frunzele pomilor din perioada recoltării fructelor. Raportul fruct/frunză a conținutului de vitamină C a fost de 0,1 la cinci soiuri și 0,2 la alte cinci soiuri și patru hibridi. Nu s-a constatat o corelație pozitivă între conținutul ridicat de vitamină C din frunze cu acela din fructe.
10. În ce privește conținutul total de azot din fructe, valorile minime și maxime înregistrate s-au scos în evidență soiurile New Star cu un conținut minim de 0.41% N și George cu un conținut maxim de 1.17% N. Soiurile care au un conținut de N mai mare în frunze au, de asemenea, un conținut de N mai ridicat și în fructe.
11. Conținutul total de proteină brută de variază în funcție de conținutul total de azot și, de asemenea, reprezintă un parametru de calitate al fructelor. Însă, dacă valorile cantitative de proteină brută diferă între soiuri atât la frunze cât și la fructe, indicele raportului fructe/frunze este același precum în cazul conținutului total de azot.
12. În cazul conținutului total de minerale din frunze variațiile sunt de maxim 2.19 ori între conținutul cel mai ridicat, înregistrat la soiul Van (26.55% din S.U.) și conținutul cel mai redus (12.12% din S.U.) înregistrat la soiul Bucium. Dacă luăm în considerație raportul conținutului de minerale din fructe raportat la conținutul din frunze constatăm că din 10 soiuri și 4 hibridi analizați 6 au avut valori de 0.5 și mai mici iar 8 au înregistrat valori mai mari de 0.5.
13. Diferențele dintre valorile acidității titrabile (indirect ale pH) la fructele și frunzele soiurilor și hibrizilor de cireș pot fi explicate prin diferențele genotipice dintre soiuri în funcție de condițiile mediului înconjurător. Valoarea raportului glucide totale/aciditate titrabilă constituie un indicator pentru aprecierea calității gustative a produselor horticoale.



## BIBLIOGRAFIE

1. **Adams, M. B., H. L. Allen & C. B. Davey (1986).** Accumulation of starch in roots and foliage of loblolly pine (*Pinus taeda* L.): Effects of season, site, and fertilization. *Tree Physiol.* 2:35-46.
2. **Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. (1993).** Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:7915–22.
3. **Ap Rees, T. (1984).** Sucrose metabolism. Pages 53-73 in D. H. Lewis (ed.), *Storage carbohydrates in vascular plants.* Cambridge Univ. Press, Cambridge.
4. **Aronoff, S. (1966).** The chlorophylls – An introductory survey. In: *The Chlorophylls* (eds L. P. Vernon and G. R. Seely), Academic Press, New York, pp. 3–20.
5. **Aviram M, Fuhrman B. (2002).** Wine flavonoids protect against LDL oxidation and atherosclerosis. *Ann NY Acad Sci* 957:146–61.
6. **Bialeski, R. L. (1982).** Sugar alcohols. *Encycl. Plant Physiol. N.S.* 13A: 158-192.
7. **Boritzki, M., Plieske, J., Struss, D. (2000).** Cultivar identification in sweet cherry using AFLP and microsatellite markers. *Acta Horticult.* 538, 505–510.
8. **Bors W, Michel CA. (2002).** Chemistry of the antioxidant: effect of polyphenols. *Ann NY Acad Sci* 957:57–69.
9. **Britton, G. (1998).** Overview of carotenoid biosynthesis. In: *Carotenoids*, Vol. 3: *Biosynthesis and Metabolism* (eds G. Britton, S. Liaaen-Jensen and H. Pfander), Birkhauser Verlag, Basel, pp. 13–147.
10. **Chaovanalikit A, Wrolstad RE. (2004).** Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. *J Food Sci* 69(1):FCT67-72.
11. **Chapin, F. S., Schälze & H. A. Mooney (1990).** The ecology and economics of storage in plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 21: 423--447.
12. **Christiansen, E., R. H. Waxing & A. A. Berryman (1987).** Resistance of conifers to bark beetle attack: Searching for general relationships. *Forest Ecol. Managem.* 22: 89-106.
13. **Clark, R. B. (1982).** Plant response to mineral element toxicity and deficiency. In: *Breeding plants for less favorable environments*, M. N. Christiansen and C. F. Lewis, Eds., 71–142. New York: John Wiley & Sons.
14. **Cottignies, A. (1986).** The hydrolysis of starch as related to the interruption of dormancy in the ash bud. *J. Pl. Physiol.* 123:381-388.
15. **Dale & J. F. Sutcliffe (1986).** Phloem transport. Pages 455-549 in F. C. Steward, J. F. Sutcliffe & J. E. Dale (eds.), *Plant physiology.* Vol. IX. Water and solutes in plants. Academic Press, Orlando.
16. **Dickson, R. E. (1989).** Carbon and nitrogen allocation in trees. *Ann. Sci. Forest* 46 suppl.: 631s – 647s.
17. Engels J.M.M., Rao Ramanatha V., Brown A.H.D., Jackson M.T. (2002). *Managing plant genetic diversity*, CABI Publishing, p. 437-455.

18. **Epstein, M. and A. J. Bloom (2005).** *Mineral nutrition of plants: Principles and perspectives*, 2nd edition. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
19. **Ericsson, A. (1984).** Effects of low temperature and light treatment, following winter cold storage, on starch accumulation in Scots pine seedlings. *Canad. J. Forest Res.* 14:114-118.
20. **Evans, J. R. (1989).** Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C3 plants. *Oecologia* 78:9–19.
21. **Evans, J. R. and J. R. Seemann (1989).** The allocation of protein nitrogen in the photosynthetic apparatus: Costs, consequences, and control. In: *Photosynthesis*, W. R. Briggs, Ed., 183–205. New York: Liss.
22. **Fageria, N. K. (1992).** *Maximizing crop yields*. New York: Marcel Dekker.
- Huber, D. M. and I. A. Thompson. 2007. Nitrogen and plant disease. In: *Mineral nutrition and plant disease*, L. E. Datnoff, W. H. Elmer, and D. M. Huber, Eds., 31–44. St. Paul, MN: The American Phytopathological Society.
23. **Fageria, N. K. and V. C. Baligar (2005a).** Enhancing nitrogen use efficiency in crop plants. *Adv. Agron.* 88:97–185.
24. **Fageria, N. K. and V. C. Baligar (2005b).** Nutrient availability. In: *Encyclopedia of soils in the environment*, D. Hillel, Ed., 63–71. San Diego, CA: Elsevier.
25. **Fageria, N. K., V. C. Baligar, and C. A. Jones (1997a).** *Growth and mineral nutrition of field crops*, 2nd edition. New York: Marcel Dekker.
26. **Fageria, N. K., V. C. Baligar, and R. B. Clark (2006).** *Physiology of crop production*. New York: The Haworth Press.
27. **Ferree, D. C. & J. W. Palmer (1982).** Effect of spur defoliation and ringing during bloom on fruiting, fruit mineral level, and photosynthesis of 'Golden Delicious' apple. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 107: 1182-1185.
28. **Ford, E. D. & J. D. Deans (1977).** Growth of a Sitka spruce plantation: Spatial distribution and seasonal fluctuations of lengths, weights, and carbohydrate concentrations of fine roots. *Pl. & Soil* 47: 463 – 485.
29. **Franceschi, V. R. (1986).** Temporary storage and its role in partitioning among sinks. Pages 399 – 409 in J. Cronshaw, W. J. Lucas & R. T. Giaquinta (eds.), *Phloem transport*. Liss, New York.
30. **Frank, H., Young, A. J., Britton, G. and Cogdell, R. J. (eds) (2000).** *The Photochemistry of Carotenoids: Applications in Biology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
31. **Friedrich JE, Lee CY. (1998).** Identification of non-anthocyanin phenolic compounds in sweet and sour cherries [Abstract]. In: IFT Annual Meeting Book of Abstracts; 1998 June 20–4; Atlanta, Ga. Chicago, Ill.: Inst. of Food Technologists. Abstract Nr 56-7.
32. **Gao L, Mazza G. (1995).** Characterization, quantitation, and distribution of anthocyanins and colorless phenolics in sweet cherries. *J Agric Food Chem* 43:343–6.

33. **Garcia-Closas, R., Gonzalez, C.A., Agudo, A., Riboli, E. (1999).** Intake of specific carotenoids and flavonoids and the risk of gastric cancer in Spain. *Cancer Causes Control* 10, 71–75.
34. **Gerlach, H.K., Stosser, R. (1998).** Sweet cherry cultivar identification using RAPD derived DNA fingerprints. *Acta Horticult.* 468, 63–69.
35. **Granger, A.R., Clarke, G.R., Jackson, J.F. (1993).** Sweet cherry cultivar identification by leaf isozyme polymorphism. *Theor. Appl. Genet.* 86, 458–464.
36. **Gregory, R.A., M. W. Williams, Jr., B. L. Wong & G. J. Hawley (1986).** Proposed scenario for dieback and decline of *Acer saccharum* in northeastern U.S.A. and southeastern Canada. *IAWA Bull. n.s.* 7: 357-369.
37. **Halliwell B, Antonia Murcia M, Chirico S, Aruoma OI. (1995).** Free radicals and antioxidants in Food and *in vivo*: what they do and how they work. *Crit Rev Food Sci Nutr* 35:7–20.
38. **Hansen, P. (1971 a).** <sup>14</sup>C-studies on apple trees. VII. The early seasonal growth in leaves, flowers and shoots as dependent upon current photosynthates and existing reserves. *Physiol. Pl.* 25: 469 – 473.
39. **Henning W, Herrmann K. (1980).** Flavonol glycosides of sweet cherries (*Prunus avium* L.) and sour cherries (*Prunus cerasus* L.). 11. Phenolic constituents of fruits. *Z Lebensm U Forsch* 170:433–44.
40. Henry R.J. (2001). *Plant genotyping, The DNA fingerprinting of Plants*, CABI Publishing, p. 29-81.
41. **Hormaza, J.I. (1999).** Early selection in cherry combining RAPDs with embryoculture. *Sci. Horticult.* 79, 121–126.
42. **Hortog MGL, Kromhout D, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Fidanza F, Ciampaoli S, Jansen A, Menotti A, Nedeljkovic S, Pekkarinen M, Simic BS, Toshima H, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB. (1995).** Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch Int Med* 155:381–6.
43. Hosaka K. (2004) *An easy, rapid and inexpensive DNA extraction method, „One-minute DNA extraction”, for PCR in potato*, *Amer J of potato Res.*, 81: 17-19.
44. **Huang, H., Layne, D.R., Kubisiak, T.L. (2003).** Molecular characterization of cultivated pawpaw (*Asimina triloba*) using RAPD markers. *J. Am. Soc. Horticult. Sci.* 128 (1), 85–93.
45. **Jakobek, L., Šeruga, M., Medvidović-Kosanović, M., Novak, I. (2007a).** Anthocyanin content and antioxidant activity of various red fruit juices. *Dtsch. Lebensm.-Rundsch.* 103, 59–64.
46. **Janardhan, K. V., N. H. Gopal & P. K. Ramaiah (1971).** Carbohydrate reserves in relation to vegetative growth, flower bud formation and crop levels in arabica coffee. *Indian Coffee* 35: 145 – 148.
47. **Jordano, P., Godoy, J.A. (2000).** RAPD variation and population genetic structure in *Prunus mahaleb*, an animal-dispersed tree. *Mol. Ecol.* 9, 1293–1305.
48. **Keller, J. D. & W. H. Loescher (1989).** Nonstructural carbohydrate partitioning in perennial parts of sweet cherry. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 114: 969 – 975.

49. **Kim, D.O., Heo, H.J., Kim, Y.J., Yang, H.S., Lee, C.Y. (2005).** Sweet and sour cherry phenolics and their protective effects on neuronal cells. *J. Agric. Food Chem.* 53, 9921–9927.
50. **Kozłowski, T.T. & T. Keller (1966).** Food relations of woody plants. *Bot. Rev.* 32: 293-382.
51. **Kozłowski, T.T. (1976).** Susceptibility of young tree seedlings to environmental stresses. *Amer. Nurseryman* 144(11): 11-13; 55-59.
52. **Kozłowski, T.T. (1979).** Tree growth and environmental stresses. Univ. of Washington Press, Seattle.
53. **Kozłowski, T.T., P. J. Kramer & S. G. Pallardy (1991).** The physiological ecology of woody plants. Academic Press, San Diego.
54. **Kramer, P. J. & T. T. Kozłowski (1979).** Physiology of woody plants. Academic Press, New York.
55. **Kroon, P.A., Williamson, G. (1999).** Hydroxycinnamates in plants and food: current and future perspective. *J. Sci. Food Agric.* 79, 355–361.
56. **Loescher, W. H. (1987).** Physiology and metabolism of sugar alcohols in higher plants. *Physiol. Pl.* 70: 553-557.
57. **Loescher, W. H., T. McCamant & J. D. Keller (1990).** Carbohydrate reserves, translocation, and storage in woody plant roots. *HortScience* 25:274 – 281.
58. **Lorio, P. L. Jr. & R. A. Sommers (1986).** Evidence for competition for photosynthates between growth processes and oleoresin synthesis in *Pinus taeda* L. *Tree Physiol.* 2: 301-306.
59. **Lynn DYC, Luh BS. (1964).** Anthocyanin pigments in Bing cherries. *J Food Sci* 29:735–43.
60. **Maestri, M. & R. S. Barros (1977).** Coffee. Pages 249-278 in P. de T. Alvim & T. T. Kozłowski (eds.), *Ecophysiology of tropical crops*. Academic Press, New York.
61. **Malusa, E., Marchesini, A. (1996).** Use of DNA amplified sequences for the genetic analysis of *Prunus*. *Atti Soc. it. Sci. Nat. Museo civ. Stor. Nat. Milano* 135 (2), 430–436.
62. **Mamani-Matsuda, M., Kauss, T., AL-Kharrat, A., Rambert, J., Fawaz, F., Thiolat, D., Moynet, D., Caves, S., Malvy, D., Mossalayi, M.D. (2006).** Therapeutic and preventive properties of quercetin in experimental arthritis correlate with decrease macrophage inflammatory mediators. *Biochem. Pharmacol.* 72, 1304–1310.
63. **Matilla, P., Hellström, J., Törrönen, R. (2006).** Phenolic acids in berries, fruits and beverages. *J. Agric. Food Chem.* 54, 7193–7199.
64. **Moorby, J. (1977).** Integration and regulation of translocation within the whole plant. *Symp. Soc. Exptl. Bot.* 31: 425-454.
65. **Mozetic B, Trebse P, Hribar J. (2002).** Determination and quantitation of anthocyanins and hydroxycinnamic acids in different cultivars of sweet cherries (*Prunus avium* L.) from Nova Gorica Region (Slovenia). *Food Technol Biotechnol* 40:207–12.

66. **Muchow, R. C. (1988).** Effect of nitrogen supply on the comparative productivity of maize and sorghum in semi-arid tropical environment: I. Leaf growth and leaf nitrogen. *Field Crops Res.* 18:1–16.
67. **Oliveira, C. M. & C. A. Priestley (1988).** Carbohydrate reserves in deciduous fruit trees. *Hort. Rev.* 10: 403 – 430.
68. **Patel, R.Z. (1970).** A note on the seasonal variations in starch content of different parts of Arabica coffee trees. *E. African Agric. Forest. J.* 36: 1-4.
69. **Poorter, H. and J. R. Evans (1998).** Photosynthetic nitrogen-use efficiency of species that differ inherently in specific leaf area. *Oecologia* 116:26–37.
70. **Porter ML, Krueger CG, Wiebe DA, Cunningham DG, Reed JD. (2001).** Cranberry procyanidins associate with low-density lipoprotein and inhibit in vitro Cu<sup>2+</sup>-induced oxidation. *J Sci Food Agric* 81:1306–13.
71. **Rasanu, N., V. Magearu, Nicoleta Matei, Alina Soceanu (2005).** Determination of vitamin C in different stages of fruits growing. *Analele Universității din Bucuresti – Chimie, Anul XIV (serie nouă), vol. I-II, pg. 167-172.*
72. **Ritchie, G.A. (1982).** Carbohydrate reserves and root growth potential in Douglas-fir seedlings before and after cold storage. *Canad. J. Forest Res.* 12: 905-912.
73. **Robert E. Blankenship (2002).** *Molecular Mechanisms of Photosynthesis.* Published by Blackwell Science Ltd, USA, ISBN 0-632-04321-0
74. **Roper, T. R. & R. A. Kennedy (1986).** Photosynthetic characteristics during leaf development in 'Bing' sweet cherry. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 111: 938-941.
75. **Ryngo, K. (1988).** *Fruit culture: Its science and art.* Wiley, New York.
76. **Sakai, A. & W. Lareher (1987).** *Frost survival of plants.* Springer-Verlag, Berlin and New York.
77. **Schaller D, Von Elbe J. (1970).** Polyphenols in Montmorency cherries. *J Food Sci* 35:762–5.
78. **Scheer, H. (ed.) (1991)** *Chlorophylls.* CRC Press, Boca Raton, FL.
79. **Schoeneweiss, D. F. (1978).** Water stress as a predisposing factor in plant disease. Pages 61 – 99 in T. T. Kozlowski (ed.), *Water deficits and plant growth.* Vol. V. Academic Press, New York.
80. **Shrikhande AJ, Francis FJ. (1973b).** Flavonol glycosides of sour cherries. *J Food Sci* 38:1305–7.
81. **Sinclair, T. R. and T. Horie (1989).** Leaf nitrogen, photosynthesis, and crop radiation use efficiency: A review. *Crop Sci.* 29:90–98.
82. **Smith, F. W. (1986).** Interpretation of plant analysis: Concepts and principles. In: *Plant analysis: An interpretation manual,* D. J. Reuter and J. B. Robinson, Eds., 1–12. Melbourne: Inkata Press.
83. **Stevenson, F. J. (1982).** Origin and distribution of nitrogen in soil. In: *Nitrogen in agricultural soils,* F. J. Stevenson, Ed., 1–42. Madison, WI: ASA, CSSA, and SSSA.
84. **Ulrich, A. (1952).** Physiological basis for assessing the nutritional requirements of plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 3:207–228.

85. **Ulrich, A. (1976).** Plant analysis as a guide in fertilizing crops. In: *Soil and plant tissues testing in California*, Division of Agriculture Science, Ed., 1–4. Davis: University of California Bull., 1879.
86. **Usenik, V., Fabčić, J., Štampar, F. (2008).** Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chem.* 107, 185–192.
87. **Waring, R.H. (1987).** Characteristics of trees predisposed to die. *BioScience* 37: 569-574.
88. Weising K., Nybom H., Wolff K., Kahl G. (2005). *DNA Fingerprinting in Plants: principles, methods and applications*, CRC Press, p. 81 – 205.
89. **Wormer, T. M. & E. H. Ebagole (1965).** Visual scoring of starch in *Coffea arabica* L. II. Starch in bearing and non-bearing wood. *Exp. Agric.* 1: 41-53.
90. **Wright, L. C., A. A. Berryman & S. Gurasiddaiah (1979).** Host resistance to the fir engraver beetle, *Scolytus ventralis* (Coleoptera: Scolytidae). 4. Effect of defoliation on wound monoterpene and inner bark carbohydrate concentrations. *Canad. Entomol.* 111: 1255-1262.

07.12.2009

**Director proiect:**  
**Prof. univ. dr. Gică GRĂDINARIU**