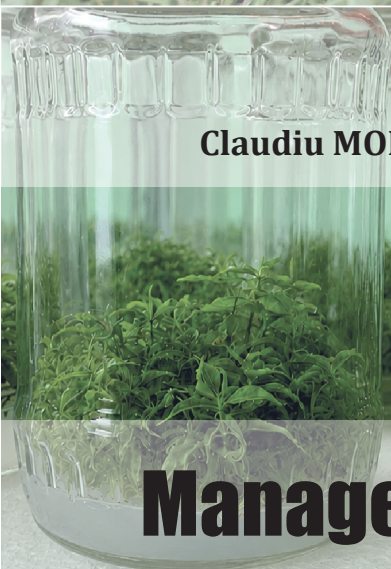


Ministerul Agriculturii și Dezvoltării Rurale

Academia de Științe Agricole și Silvicultură 'Gheorghe Ionescu - Șişești' București

**Stațiunea de Cercetare - Dezvoltare pentru
Pomicultură Bistrița**

**Institutul de Cercetare - Dezvoltare pentru
Pomicultură Pitești Mărăcineni**



Luminița Antonela ZAGRAI

Ioan ZAGRAI

Claudiu MOLDOVAN

Catița ȘARPE

Larisa Daniela VLAȘIN

Georgeta Maria GUZU

Managementul integrat al producerii materialului de înmulțire cu status indemn la specia prun

- de la cadrul legislativ la implementarea practică -



Editura Născut Liber

Ministerul Agriculturii și Dezvoltării Rurale
Academia de Științe Agricole și Silvicultură 'Gheorghe Ionescu Șişești' București

**Stațiunea de Cercetare-Dezvoltare pentru
Pomicultură Bistrița**

**Institutul de Cercetare-Dezvoltare pentru
Pomicultură Pitești Mărăcineni**

Luminița Antonela ZAGRAI

Ioan ZAGRAI

Larisa Daniela VLAȘIN

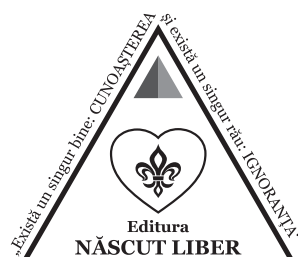
Claudiu MOLDOVAN

Catița ȘARPE

Georgeta Maria GUZU

Managementul integrat al producerii materialului de înmulțire cu status indemn la specia prun

- de la cadrul legislativ la implementarea practică -



Bistrița, 2026

Coordonator:
CS I, Dr. ing. Zagrai Luminița Antonela - SCDP Bistrița

Autori:
CS I, Dr. ing. Zagrai Luminița Antonela - SCDP Bistrița
CS I, Dr. ing. Zagrai Ioan - SCDP Bistrița
ACS, Drd. ing. Vlașin Larisa Daniela - SCDP Bistrița
CS, Dr. ing. Moldovan Claudiu - SCDP Bistrița
CS I, Dr. ing. Șarpe Catia - ICDP Pitești-Mărăcineni
CS, Dr. ing. Guzu Georgeta Maria - SCDP Bistrița

Lucrarea a fost elaborată în cadrul proiectului sectorial **ADER 6.3.4/2023 - Sistem integrat de obținere și menținere de material de înmulțire din categoriile biologice superioare și producere de material de plantare la specia prun în conformitate cu noua legislație națională și directivele europene în domeniu**, finanțat de Ministerul Agriculturii și Dezvoltării Rurale, România.

Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale a României
Managementul integrat al producerii materialului de înmulțire
cu status indemn la specia prun: de la cadrul legislativ la
implementarea practică / Luminița Antonela Zagrai, Ioan Zagrai,
Larisa Daniela Vlașin, - Bistrița: Născut Liber, 2026
ISBN 978-606-95989-9-3
I. Zagrai, Luminița Antonela
II. Zagrai, Ioan
III. Vlașin, Larisa-Daniela
634.2

**„La baza agriculturii trebuie așezată
cercetarea științifică autohtonă.”**
Valeriu Tabără

PREFAȚĂ

*Lucrarea **Managementul integrat al producerii materialului de înmulțire cu status indemn la specia prun** își propune să ofere o actualizare a cunoștințelor din domeniu, răspunzând totodată noilor provocări asociate etapelor lanțului de producere a materialului de înmulțire cu statut indemn, conform noii legislații în vigoare.*

Conform datelor statistice, prunul se menține ca specie pomicolă dominantă în România, ceea ce evidențiază semnificația sa economică majoră. Totuși, această cultură este susceptibilă la pierderi economice importante generate de diverși patogeni virali. În acest context, utilizarea materialului de înmulțire sănătos, liber de agenți patogeni și dăunători, constituie o măsură preventivă fundamentală pentru asigurarea durabilității și sustenabilității culturilor.

Lucrarea de față urmărește, într-o construcție logică și coerentă, drumul complet al materialului de înmulțire la specia prun, de la contextul general al culturii prunului până la sistemul integrat de obținere și certificare a materialului de plantare cu status indemn. Demersul pornește de la importanța economică și horticolă a prunului, analizată în dinamică istorică și geografică, la nivel mondial, european și național, precum și de la evoluția sortimentului, ca expresie a progresului genetic și a adaptării la cerințele pieței și ale mediului.

Un capitol distinct este dedicat rolului esențial al materialului de înmulțire din categoriile biologice superioare, abordat atât din perspectivă conceptuală, cât și prin raportare la situația internațională și la realitățile specifice României. Sunt evidențiate diferențele de abordare, nivelul de organizare și principalele dificultăți care condiționează asigurarea unui material săditor de înaltă calitate biologică. Cadrul legislativ și schemele de certificare sunt prezentate ca elemente structurante ale întregului sistem, cu accent pe armonizarea reglementărilor și pe particularitățile implementării acestora la specia prun. Această analiză creează baza pentru înțelegerea cerințelor tehnice și fitosanitare impuse în producerea materialului de înmulțire.

Partea centrală a lucrării este consacrată tehnicilor de laborator utilizate în detecția, prevenirea și controlul agenților patogeni, precum și metodelor moderne de devirozare și conservare in vitro a materialului biologic. Sunt descrise, într-o abordare integrată, tehnicile serologice, moleculare și biologice, alături de strategiile de conservare pe termen scurt, mediu și lung, evidențiind rolul acestora în menținerea autenticității și sănătății materialului de înmulțire.

Monitorizarea agenților patogeni și de dăunare specifici prunului este tratată extensiv, prin prezentarea principalelor virusuri, fitoplasme, bacterii, ciuperci, insecte și nematozi, subliniindu-se impactul lor asupra calității materialului biologic și necesitatea unui control riguros și permanent.

În capitolele finale sunt detaliate etapele concrete de obținere și menținere a materialului de înmulțire din categoriile biologice superioare, cu status indemn, de la nivelul de Prebază și Bază până la producerea materialului de plantare Certificat. Sunt descrise atât soluțiile ex situ, sub protecție de vectori, cât și conservarea in vitro și organizarea plantațiilor mamă. Lucrarea se încheie prin conturarea unui sistem integrat de obținere, menținere și certificare a materialului de înmulțire și plantare la specia prun, implementat la SCDP Bistrița, care sintetizează relația dintre cercetare, practică horticola și reglementare, oferind un cadru coerent pentru asigurarea durabilă a unui material săditor sănătos și valoros din punct de vedere biologic și economic.

Lucrarea se adresează atât fermierilor din pomicultură, cât și altor specialiști din domeniu, precum și cercetătorilor, cadrelor universitare, studenților și altor potențiali beneficiari (DAJ, UFJ, ITCSMS etc). De asemenea, lucrarea oferă informații utile Ministerului Agriculturii și Dezvoltării Rurale, finanțatorul proiectului care a facilitat obținerea acestor rezultate referitoare la producerea materialului de înmulțire cu status indemn la specia prun.

Autorii

CUPRINS

1. Importanța economică și evoluția culturii prunului	9
1.1. Cultura prunului în context mondial, european și național	9
1.1.1. Cultura prunului pe plan mondial.....	10
1.1.2. Cultura prunului la nivel european.....	11
1.1.3. Cultura prunului în România.....	12
1.2. Evoluția sortimentului de soiuri și portaltoi la specia prun.....	13
1.2.1. Evoluția sortimentului de soiuri la specia prun	13
1.2.2. Evoluția sortimentului de portaltoi la specia prun	15
2. Rolul materialului de înmulțire din categoriile biologice superioare în pomicultura modernă.....	18
2.1. Categoriile biologice ale materialului de înmulțire fructifer	18
2.2. Situația la nivel internațional.....	18
2.3. Provocări și perspective în România	20
3. Cadrul legislativ și schemele de certificare în producerea materialului de înmulțire la prun.....	21
3.1. Principii și cerințe în producerea materialului de înmulțire.....	21
3.2. Scheme de certificare și standarde fitosanitare.....	26
3.3. Implementarea noii legislații la specia prun în România.....	30
3.3.1. Statusul fitosanitar al materialului de înmulțire.....	30
3.3.2. Etapele producerii materialului de înmulțire	31
4. Metode și tehnici de laborator utilizate în obținerea și menținerea materialului de înmulțire cu status indemn.....	33
4.1. Detecția virusurilor și fitoplasmelor	33
4.1.1. Tehnici serologice	33
4.1.2. Tehnici moleculare	35
4.1.3. Metode biologice.....	39
4.2. Tehnici de devirozare	41
4.2.1. Tehnici de devirozare <i>in vivo</i>	41
4.2.2. Tehnici de devirozare <i>in vitro</i>	42
4.3. Tehnici de conservare <i>in vitro</i> a materialului de înmulțire	47
4.3.1. Conservarea pe termen scurt prin culturi de țesuturi.....	48
4.3.2. Conservarea pe termen mediu prin tehnica creșterii lente	52
4.3.3. Conservarea pe termen lung prin crioconservare	57
5. Monitorizarea și controlul fitosanitar în producerea materialului de înmulțire cu status indemn la prun	64

5.1. Virusuri	66
5.1.1. <i>Potyvirus plumpoxi</i>	67
5.1.2. <i>Ilarvirus PDV</i>	74
5.1.3. <i>Ilarvirus PNRSV</i>	76
5.1.4. <i>Ilarvirus ApMV</i>	78
5.1.5. <i>Trichovirus mali</i>	79
5.1.6. <i>Nepovirus cerasiferae</i>	81
5.1.7. <i>Nepovirus lycopersici</i>	82
5.2. Fitoplasme	84
5.2.1. <i>Candidatus Phytoplasma prunorum</i>	84
5.3. Bacterii.....	87
5.3.1. <i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>pruni</i>	87
5.3.2. <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	90
5.3.3. <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>morsprunorum</i>	93
5.4. Ciuperci și oomicete	96
5.4.1. <i>Phytophthora cactorum</i>	96
5.4.2. <i>Verticillium dahliae</i>	100
5.5. Dăunători	103
5.5.1. <i>Pseudaulacaspis pentagona</i>	103
5.5.2. <i>Quadraspidiotus perniciosus</i>	107
5.6. Nematozi	110
6. Sistem integrat de obținere, menținere și certificare a materialului de înmulțire și plantare cu status indemn la specia prun	113
6.1. Selecția genotipurilor de interes la specia prun.....	114
6.2. Obținerea materialului de înmulțire din categoriile biologice superioare, cu status indemn, la specia prun	125
6.3. Conservarea materialului de înmulțire Prebază indemn la specia prun	130
6.3.1. Conservarea <i>ex situ</i> în biodepozitare	130
6.3.2. Conservarea <i>in vitro</i>	132
6.4. Devirozarea materialului infectat prin tehnici moderne <i>in vitro</i>	142
6.5. Demonstrarea funcționalității unui sistem integrat de obținere și menținere a materialului de înmulțire și plantare cu status indemn la specia prun	149
Bibliografie.....	151

1. Importanța economică și evoluția culturii prunului

Cultura speciilor pomicele sâmburoase are un rol central în horticultura mondială, europeană dar și națională, atât prin importanța economică, cât și prin valoarea alimentară a fructelor. Rentabilitatea culturilor este influențată de numeroși factori biotici și abiotici care, parțial, pot fi controlați prin aplicarea unor tehnologii și strategii adecvate.

Genul *Prunus* aparține familiei Rosaceae și reunește aproximativ 98 de specii, distribuite predominant în regiunile temperate ale emisferei nordice (Topp și colab., 2012; Kumar și colab., 2021). Acesta cuprinde specii pomicele de interes major precum prunul, caisul, piersicul, nectarinul, cireșul, vișinul și migdalul. Numeroase specii de *Prunus* sunt cultivate extensiv pentru producția de fructe, altele doar în scop ornamental. Dintre speciile sâmburoase, prunul se numără printre cele mai răspândite și valoroase culturi din zonele temperate, iar importanța sa economică se datorează cultivării pe suprafețe extinse a speciei hexaploide *P. domestica* L. (prunul european), dar și a speciei diploide *P. salicina* (prunul japonez), cultivate în regiunile cu climat mediteranean (Mitre, 2002; Okie și Hancock, 2008; Butac, 2020; Kumar și colab., 2021).

La nivel global, *P. domestica* L. este principalul reprezentat al genului și este printre speciile cele mai cultivate și apreciate datorită cerințelor modeste față de sol și climă, adaptabilității ecologice ridicate, tehnologiei de cultură relativ simple, perioadei îndelungate de valorificare a fructelor și diversității acestora (Cociu și colab., 1997). Aceste caracteristici conferă fructelor valoare alimentară ridicată și constituie o importantă sursă de venituri (Butac, 2020). Importanța sa economică este susținută de consumul fructelor în stare proaspătă, utilizării sale în industria de procesare și de rolul în obținerea băuturilor tradiționale, contribuind semnificativ la economia rurală. Valoarea nutrițională ridicată a prunelor rezidă atât din aportul de energie, cât și din diversitatea principalilor compuși: glucide, substanțe acide, pectice, taninuri, vitamine și săruri minerale (Walkowiak-Tomczak, 2008; Milosevič și Milosevič, 2018).

1.1. Cultura prunului în context mondial, european și național

Genul *Prunus* cuprinde o diversitate largă de specii și soiuri, remarcabile prin heterogenitate morfologică și genetică, răspândite la nivel mondial, atât sub forme sălbatice, semi-sălbatice, cât și sub forme cultivate. Dintre acestea, *P. domestica* se distinge prin importanța economică deosebită, specia fiind cultivată nu doar în Europa, ci și pe alte continente (Okie și Hancock, 2008). Prunul european prezintă o adaptabilitate optimă în arealele caracterizate prin acumularea unui număr ridicat de ore de frig în perioada de repaus vegetativ, veri răcoroase și ierni cu temperaturi moderate (Afanador-Barajas și colab., 2022).

În prezent, cultura prunului se confruntă cu provocări generate de schimbările climatice, incidența agenților patogeni, în special virali, și cerințele tot mai stricte privind certificarea fitosanitară. În acest context, devine necesară adoptarea și integrarea unor tehnologii moderne de monitorizare și management a plantațiilor,

capabile să faciliteze intervenții prompte și eficiente, orientate atât spre menținerea stării fitosanitare a plantelor, cât și spre maximizarea potențialului productiv. Zonele cu cele mai favorabile condiții pentru cultura prunului includ regiunile temperate ale Europei Centrale și de Sud, precum și anumite părți din Asia și America de Nord (Butac, 2020).

1.1.1. Cultura prunului pe plan mondial

Cultura prunului are o răspândire extinsă la nivel global, iar fructele sunt foarte apreciate de către consumatori. Conform ultimelor date FAO, în perioada 2000-2024, suprafața cultivată și producția la nivel mondial au urmat un trend general ascendent, cu variații minore de la un an la altul (Fig. 1). Suprafața cultivată cu prun prezintă o creștere constantă de-a lungul celor 25 de ani, în timp ce producția relevă o evoluție fluctuantă, prezentând creșteri semnificative în perioada 2016-2019. Creșterea producției este mai accentuată decât creșterea suprafeței, ceea ce indică îmbunătățirea productivității (randament/ha), posibilitatea introducerii unor soiuri mai productive, dar totodată și optimizarea tehnologiilor de cultură și un management fitosanitar integrat.

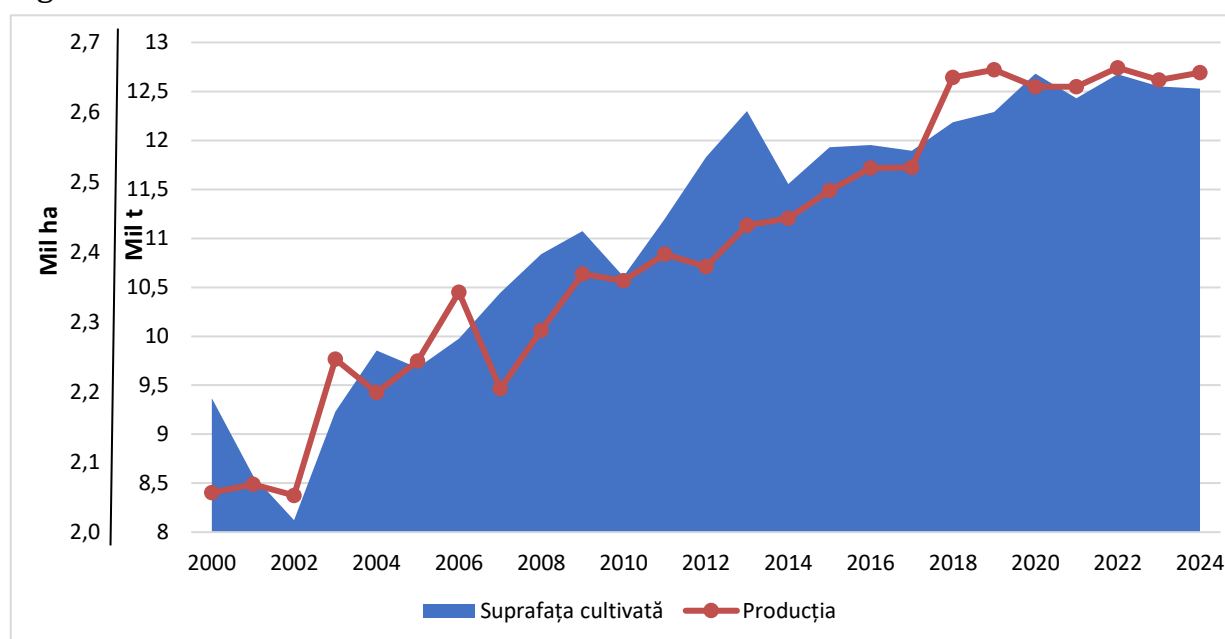


Figura 1. Evoluția la nivel mondial a suprafeței și a producției culturii prunului
(Sursa: FAOSTAT, 2026)

În perioada 2000–2024, dintre speciile pomice cultivate în regiunile temperate, prunul s-a situat pe locul al doilea, după măr, în ceea ce privește suprafața cultivată și pe locul al patrulea, după măr, piersic și păr, în ceea ce privește producția de fructe (FAOSTAT, 2026). Distribuția geografică a producției de prune (Fig. 2) evidențiază o concentrare predominantă în Asia, care realizează 65,8% din producția mondială, urmată de Europa, cu 21%, America de Nord și de Sud, cu 8,6%, și Africa, cu 4,4% (FAOSTAT, 2026).

În aceeași perioadă, China s-a clasat detașat pe primul loc în ierarhia mondială a producătorilor de prune, cu o producție medie anuală de peste 5 milioane de tone. România a ocupat locul al doilea, cu o producție medie de 576 mii tone, urmată de Serbia, cu 482 mii tone (FAOSTAT, 2026). Această poziționare evidențiază importanța culturii prunului în România și potențialul competitiv al acesteia la nivel mondial.

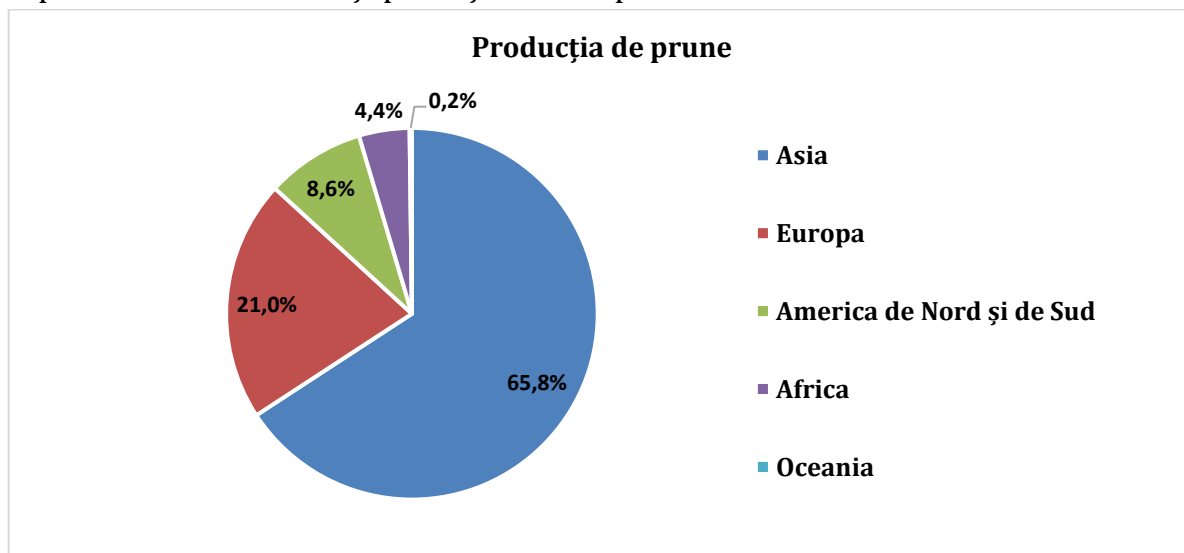


Figura 2. Distribuția pe continente a producției de prune
(Sursa: FAOSTAT, 2026)

1.1.2. Cultura prunului la nivel european

Cultura prunului la nivel european a înregistrat fluctuații semnificative de-a lungul perioadei 2000-2024 (Fig. 3). În ceea ce privește suprafața cultivată, se observă un declin pronunțat începând cu anul 2014, atingând un minim în perioada 2014-2017. În schimb, producția de fructe prezintă o variabilitate accentuată, cu fluctuații anuale semnificative. Se observă un trend ușor ascendent de-a lungul celor 25 de ani, cea mai ridicată producție fiind înregistrată în anul 2018, când a fost depășit pragul de 3 milioane tone, conform datelor FAOSTAT (2026). Această evoluție denotă o eficiență sporită în exploatarea plantațiilor existente, întrucât, în ciuda reducerii suprafeței cultivate, producția totală s-a menținut la un nivel relativ ridicat.

În Europa, dintre speciile pomicole, prunul ocupă poziția a doua după măr, în ceea ce privește suprafața cultivată, și poziția a treia după măr și piersic, în privința producției de fructe, pentru aceeași perioadă analizată (FAOSTAT, 2026).

Cele mai favorabile condiții pentru cultura prunului în Europa se regăsesc în regiunea balcanică și în sudul Franței, Spaniei și Italiei, zone caracterizate de tradiții îndelungate în cultivarea acestei specii, determinate de condițiile climatice favorabile și de fertilitatea solurilor (Butac, 2020). România se numără printre principalii producători de prune din Europa, ocupând primul loc la producția de fructe (FAOSTAT, 2026).

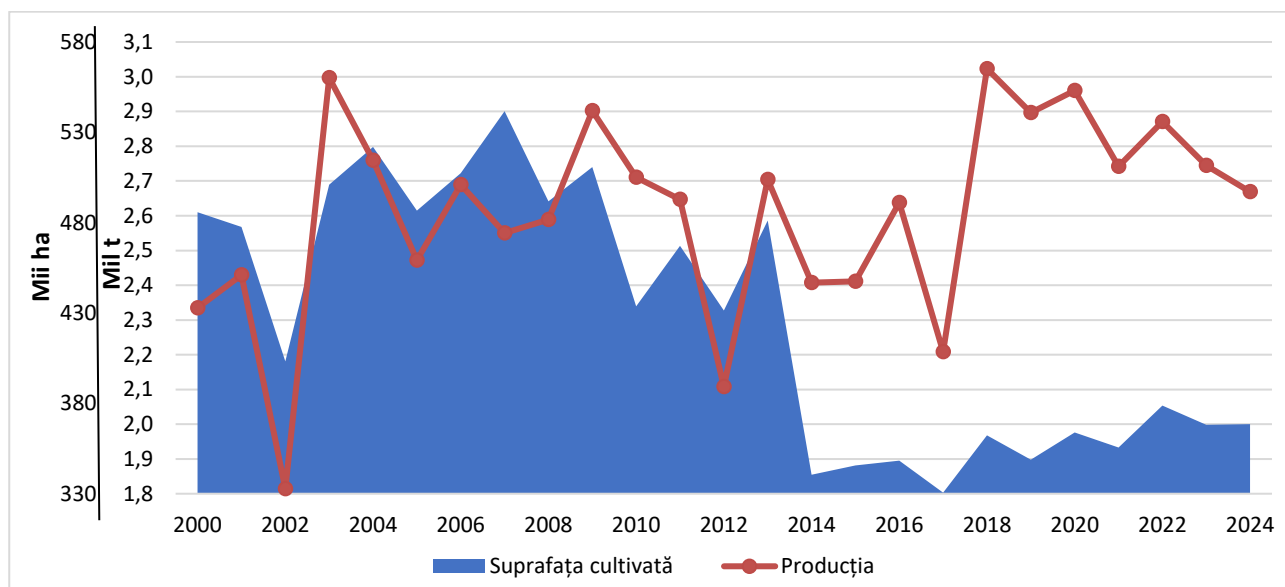


Figura 3. Evoluția la nivel european a suprafeței și a producției culturii prunului
(Sursa: FAOSTAT, 2026)

1.1.3. Cultura prunului în România

La nivel național, prunul ocupă prima poziție între principalele specii pomicole în ceea ce privește suprafața cultivată, iar din punct de vedere al producției de fructe se menține pe primul loc din anul 2014, depășind cultura mărului (FAOSTAT, 2026). România beneficiază de condiții agroclimatice favorabile culturii prunului, cu cele mai extinse suprafețe cultivate în Transilvania, Muntenia, Moldova și Oltenia (Păltineanu și colab., 2017).

Analiza evoluției suprafeței cultivate și a producției obținute în perioada 2000-2024 (Fig. 4) evidențiază o diminuare semnificativă a suprafețelor cultivate cu prun, accentuată după anul 2008, când acestea au scăzut constant sub pragul de 70 mii hectare (FAOSTAT, 2026).

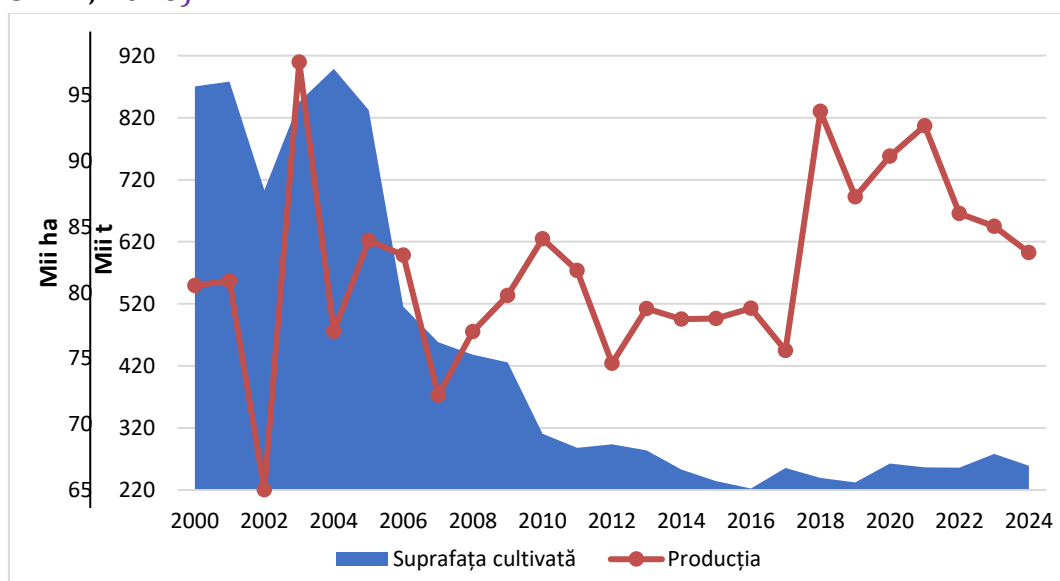


Figura 4. Evoluția în România a suprafeței și a producției culturii prunului
(Sursa: FAOSTAT, 2026)

Cu toate acestea, în pofida reducerii suprafețelor cultivate, producția totală s-a menținut la un nivel relativ constant, manifestând chiar o ușoară tendință de creștere începând cu anul 2010, cu vârfuri notabile în anii 2018 și 2021 (FAOSTAT, 2026). Această evoluție, marcată de reducerea suprafeței cultivate în paralel cu creșterea producției, reflectă o modificare semnificativă a structurii plantațiilor pomicole, determinată de orientarea progresivă către livezi moderne, intensive, capabile să asigure randamente superioare pe unitatea de suprafață.

1.2. Evoluția sortimentului de soiuri și portaltoi la specia prun

Prunul reprezintă una dintre cele mai vechi specii pomicole cultivate, având o importanță deosebită atât economic, cât și cultural (Neumüller, 2011). La nivel mondial, prunul se numără printre cele mai importante specii pomicole, fiind reprezentat de aproximativ 6.000 de soiuri, aparținând unui număr de circa 40 de specii originare din Europa, Asia și America (Pirkhezri și colab., 2014). Dintre acestea, cele mai importante specii în producția comercială sunt reprezentate de prunul european (*Prunus domestica* L.) și prunul japonez (*Prunus salicina* Lindl). Chiar dacă ambele specii, europeană și japoneză, fac parte din aceeași secțiune taxonomică, ele se diferențiază prin origine, cerințe față de factorii de mediu, fiind cultivate ca și culturi separate și comercializate ca produse distincte (Topp și colab., 2012).

Originile prunului european se regăsesc în bazinul Europei de Sud-Est, unde a fost cultivat încă din antichitate pentru consumul proaspăt și pentru procesarea fructelor sub formă de prune uscate, gemuri sau compoturi (Butac și colab., 2015). Prunul japonez, originar din Asia de Est, a fost introdus în Europa și America în secolul al XIX-lea, contribuind la diversificarea genetică a speciei și la apariția unor soiuri hibride cu caracteristici superioare, cum ar fi fructe mai mari și cu rezistență sporită la boli (Wangchu și colab., 2021). Atât specia europeană cât și cea japoneză se remarcă printr-o mare diversitate genetică și o valoare economică importantă în pomicultură (Butac și colab., 2019).

1.2.1. Evoluția sortimentului de soiuri la specia prun

De-a lungul timpului, cultivarea prunului a evoluat semnificativ, trecând de la utilizarea soiurilor locale, adaptate condițiilor climatice și pedologice, la crearea de soiuri ameliorate și la adoptarea unor tehnologii moderne de cultură, menite să crească productivitatea, să îmbunătățească calitatea fructelor și să optimizeze eficiența economică (Milošević și Milošević, 2023).

În perioada tradițională, cultura prunului se baza pe un sortiment format în mare parte din populații locale și soiuri vechi, caracterizate printr-o bună adaptabilitate la condițiile de mediu, dar cu o variabilitate mare a producției și a calității fructelor (Gharaghani și Solhjoo, 2021). Aceste soiuri erau utilizate atât pentru consumul proaspăt, cât și pentru procesare, în special pentru obținerea prunelor uscate și a băuturilor alcoolice (Ayub și colab., 2023). Odată cu dezvoltarea cercetării pomicole și

elaborarea programelor de ameliorare a apărut necesitatea introducerii unor soiuri cu productivitate constantă, fructe uniforme, calități gustative superioare și rezistență mai bună la boli și dăunători (Shuo și colab., 2023).

Progresul genetic a condus la selecția și crearea unor soiuri aparținând atât prunului european, cât și prunului japonez, adaptate diferitelor zone climatice și cerințelor pieței (Neumüller, 2011). Soiurile moderne se caracterizează prin maturare eșalonată, mărime mare a fructelor, fermitate bună a pulpei și capacitate ridicată de păstrare și transport (Khan și colab., 2018).

La nivel internațional, primele soiuri cultivate au fost selecții locale cu fructe destinate consumului proaspăt sau procesării. În Europa, exemplele clasice includ Reine Claude d'Althan, faimos pentru calitatea fructelor și utilizarea în conserve (compoturi); Stanley, apreciat pentru productivitate, rezistența la unele boli și fructele potrivite pentru consum și industrializare; Victoria, un soi britanic cu fructe mari și dulci, destinate consumului proaspăt; Čačanská Lepotica apreciat pentru rezistența mare la transport; Čačanská Rana, soi cu maturare timpurie; President, soi care se pretează la consumul în stare proaspătă (Popa și colab., 2014).

În secolul XX, cercetările pomicole au condus la selecția unor soiuri moderne cu productivitate ridicată și calitate superioară a fructelor, precum Opal, Tophit, Early Rivers, Franzi, Moni, adaptate cerințelor piețelor de consum și export (Sottile și colab., 2022).

În România, prunul are o tradiție îndelungată de cultivare care a plasat țara printre principalii producători europeni încă din secolul XX. De-a lungul ultimului secol, cultura prunului a suferit transformări semnificative în ceea ce privește sortimentul de soiuri, tehnicile de producție și obiectivele programelor de ameliorare (Botu și colab., 2008).

Prunul are un rol major în pomicultura românească atât prin suprafața cultivată, cât și prin valoarea economică a producției. România se afla, istoric, printre principalii producători mondiali de prune, cu recolte ce depășeau 900.000 t în anii 1960–1970. Utilizarea tradițională a fructelor era orientată în special spre distilarea țuicii și alte produse procesate. Apoi, producția și suprafețele cultivate au scăzut din cauza restructurării agricole de după perioada 1990 și a plantațiilor neîngrijite. Cu toate acestea, cercetătorii români au dezvoltat programe de ameliorare pentru adaptarea culturii la cerințele pieței și la condițiile climatice actuale (Botu și colab., 2008).

Evoluția sortimentului prunului a început odată cu inițierea programelor de ameliorare care, în România, a debutat în anii 1950, folosindu-se genotipuri locale, precum Tuleu gras, Grase românești și Vinete românești, ca material de bază în programe de încrucișare și selecție (Cociu, 1993).

Principalele obiective de ameliorare care se urmăresc în cadrul programelor de ameliorare din România, la specia prun, sunt: îmbunătățirea soiurilor autohtone vechi (Tuleu gras, Grase românești și Vinete românești); dezvoltarea de soiuri cu perioade diferite de coacere și cu fructe de calitate superioară destinate atât pieței de consum proaspăt, cât și procesării; obținerea de soiuri cu înflorire târzie, rezistente la

înghețurile târzii de primăvară, cu rezistență sau toleranță la virusuri (în special la Plum pox virus), precum și cu vigurozitate redusă și rodire pe ramuri scurte (Butac și colab., 2008; Butac, 2020). Ca rezultat al acestui program de ameliorare a sortimentului de prun au fost înregistrate peste 30 de noi soiuri, astfel: la ICDP Pitești-Mărăcineni soiurile Agent, Albatros, Alina, Bărăgan 17, Carpatin, Centenar, Dâmbovița, Diana, Flora, Gras ameliorat, Ialomița, Minerva, Pescăruș, Piteștean, Renclod de Caransebeș, Roman, Sarmatic, Silvia, Superb, Tita, Tuleu timpuriu și Vinete românești cl. 300; la SCDP Bistrița soiurile Dani, Delia, Doina, Elena, Geta, Iulia, Ivan, Jubileu 50, Matilda, Romaner, Zamfira și Zandra; la SCDP Vâlcea soiurile Andreea și Vâlcean, iar la SCDP Voinești soiurile Tuleu dulce și Record (Butac și colab., 2021; Zagrai L. și Zagrai I., 2025).

Ultimele studii în domeniu evidențiază și importanța rezistenței la înghețurile târzii din primăvară. Astfel, soiurile Iulia și Elena, creații ale SCDP Bistrița, dar și soiul Centenar au dovedit rezistență/toleranță ridicată la înghețurile de primăvară (Zagrai L. și colab., 2025a).

Evoluția sortimentului de soiuri include și adaptarea la amenințările fitopatologice. Studii recente au analizat comportamentul soiurilor de prun față de *Monilinia* spp., agentul cauzal al putregaiului brun, evidențiind diferențe semnificative în susceptibilitatea unor soiuri. Aceste rezultate oferă oportunități pentru selecția soiurilor tolerante la monilioză (Zamfira, Anna Späth, Doina) esențială în contextul schimbărilor climatice (Moldovan și colab., 2023a). Pe lângă selecția clasică și încrucișările tradiționale, în cercetarea românească, pentru susținerea evoluției sortimentului de soiuri se utilizează și micropropagarea *in vitro*, precum și conservarea germoplasmei, tehnici care cresc eficiența multiplicării și asigură menținerea soiurilor valoroase (Strîmbu și colab., 2025).

Evoluția sortimentului de soiuri de prun din România în ultimii 15 ani se reflectă în înscrierea în *Catalogul Oficial* a unor soiuri noi, care completează și diversifică oferta existentă, răspunzând cerințelor pentru consum proaspăt și procesare, precum și pentru adaptarea la condițiile ecologice și fitosanitare actuale. Unitățile de cercetare, care prin activitățile lor, au îmbunătățit sortimentul românesc de soiuri în ultimii 15 ani sunt: ICDP Pitești-Mărăcineni (soiurile Milenium și Romanța), SCDP Bistrița (soiul Zandra), respectiv SCDP Vâlcea (soiurile Alutus, Celia și Topval). Ameliorarea soiurilor de prun din România evidențiază preocuparea constantă a cercetării pentru adaptarea culturii la cerințele biologice și economice actuale. Programele de ameliorare au contribuit la diversificarea sortimentului, la îmbunătățirea calității fructelor și la corelarea acestora cu cerințele consumului. Continuarea studiilor privind rezistența/toleranța la boli, conservarea germoplasmei și integrarea tehnologiilor moderne rămâne necesară pentru menținerea competitivității culturii prunului.

1.2.2. Evoluția sortimentului de portaltoi la specia prun

Prunul a fost cultivat tradițional în sisteme extensive, bazate aproape exclusiv pe portaltoi generativi, proveniți din sămânță, caracterizați prin vigoare mare și

adaptabilitate bună la condițiile pedoclimatice locale (Wangchu și colab., 2021). Alegerea portaltoilor influențează direct productivitatea, calitatea fructelor și rezistența la boli și la condițiile climatice variabile. Evoluția sortimentului de prun și a portaltoilor a fost influențată în mare parte de cerințele pieței și de tehnologiile de cultură (Dhurve și colab., 2023). Dezvoltarea portaltoilor a permis controlul vigurozității pomilor, adaptarea la diferite tipuri de sol și realizarea de livezi intensive și superintensive, cu densități mari de plantare și intrare rapidă pe rod (Gull și colab., 2022).

Timp de secole, principalul portaltoi utilizat a fost corcodușul (*Prunus cerasifera*), apreciat pentru compatibilitatea largă cu soiurile de prun, rezistența la secetă, toleranța la soluri mai grele și longevitatea pomilor altoiți. Acesta a determinat formarea unor pomi de dimensiuni mari, cu coroane ample și intrare tardivă pe rod, dar cu stabilitate și durată mare de exploatare a livezilor. Alături de corcoduș, au mai fost utilizați prunul franc (*P. domestica* obținut din sâmbure) și, mai rar, porumbarul (*P. spinosa*), în special în zonele colinare și montane, unde rezistența la ger constituia un criteriu important (Korkmaz și colab., 2023). Portaltoi locali, selecționați empiric din flora spontană, prezentau însă o mare variabilitate genetică, ceea ce conducea la neuniformitatea pomilor din livadă și la dificultăți în aplicarea unei tehnologii unitare de cultură. În aceste sisteme clasice, distanțele de plantare erau mari, de cca 6×5 m, 7×5 m, 7×6 m sau 8×6 m, corespunzătoare unor densități de 200–330 pomi/ha (Mika și colab., 2015).

Odată cu dezvoltarea pomiculturii moderne și a livezilor intensive s-a impus necesitatea utilizării portaltoilor clonali, capabili să confere pomilor o vigoare controlată, uniformitate și o intrare mai rapidă pe rod. Astfel, în ultimii 25 de ani, portaltoi de vigoare redusă au devenit tot mai frecvenți la prun în paralel cu dezvoltarea sistemelor de cultură protejată. Studii recente au demonstrat obținerea cu succes a unor portaltoi clonali cu diferite niveluri de vigoare la prun (Uğur, 2025). Aceste progrese permit un control mai eficient al dimensiunii pomilor și facilitează mecanizarea atât a recoltării, cât și a lucrărilor de întreținere a livezii.

În pomicultura modernă, alegerea portaltoiului potrivit este importantă pentru asigurarea compatibilității fiziologice și pentru o gestionare eficientă a plantației. Selectarea corectă a portaltoiului nu doar că reduce costurile cu forța de muncă pentru lucrări precum tăierea și fertilizarea, dar contribuie semnificativ și la îmbunătățirea calității fructelor. Această integrare aduce, de asemenea, avantaje pentru tehnologiile moderne de agricultură digitală, cum ar fi teledetecția și irigarea bazată pe date. Utilizarea portaltoilor clonali la speciile sâmburoase a devenit astfel o direcție importantă pentru creșterea eficienței, calității și sustenabilității (Uğur, 2025).

În plan internațional, au fost create numeroase serii de portaltoi pentru prun, dintre care se remarcă: St. Julien A și St. Julien GF 655/2 (Franța), care prezintă vigoare mijlocie, bună compatibilitate, utilizați pe scară largă în Europa (Nicolae și colab., 2024); Mirobolan 29C, o selecție clonală de *P. cerasifera*, mai uniformă decât corcodușul franc (Korkmaz și colab., 2023); Wavit, Weiwa, Wangenheim (Germania), portaltoi semipitici, favorabili pentru livezi de densitate mare (Milutinovic și Nikolic, 1993); Ishtara, Jaspi,

Pixy, portaltoi de vigoare redusă, adaptați sistemelor superintensive și culturii protejate (Renaud și colab., 1989).

Cercetările din România au condus la selecția și omologarea mai multor portaltoi vegetativi adaptați condițiilor locale și orientați spre sisteme de cultură intensive sau semi-intensive precum: Oteșani 8, un portaltoi de vigoare scăzută, potrivit pentru livezi cu densități mari (1000–1200 pomi/ha) și Oteșani 11, un portaltoi de vigoare medie, potrivit pentru densități moderate (500–700 pomi/ha). Acești portaltoi provin din programe de ameliorare desfășurate la SCDP Vâlcea și sunt rezultatul selecțiilor locale de *P. domestica* și *P. insititia*. Un set important de portaltoi obținuți prin încrucișări și selecții clonale include: Miroval, Rival, Olval, Corval și Pinval, cu niveluri de vigoare variabile, de la medie la mare, adaptate pentru diferite densități de plantare și condiții pedoclimatice. Acești portaltoi oferă opțiuni standardizate pentru livezi comerciale, înlocuind treptat portaltoii generativi vechi, neuniformi și greu de gestionat în sistemele intensive de cultură (Achim și colab., 2008).

Alături de portaltoii autohtoni clasici, au fost omologați și introduși în producție portaltoi noi, rezultați din programele de ameliorare desfășurate în România. Un exemplu de referință îl reprezintă portaltoiul cu înmulțire vegetativă și generativă, denumit mirobolan BN 4Kr, obținut și omologat la SCDP Bistrița, singurul portaltoi de mirobolan rezistent la virusul Plum pox (Minoiu și colab., 1997; Minoiu și Vlădianu, 2001; Zagrai I. și colab., 2016). La ICDP Pitești-Mărăcineni au fost creați și omologați portaltoii Mirobolan C5 (clonal semi-pitic), folosit pe scară largă pentru uniformitate și vigoare controlată, Mirobolan dwarf, potrivit pentru densități mari (Nicolae și colab., 2024). Alți portaltoi, precum Mirodad 2 și Adaptabil sunt în continuare evaluați pentru compatibilitatea cu principalele soiuri de prun și pentru adaptabilitatea la diferite condiții de cultură.

În România se folosesc și portaltoi de origine internațională, recomandați pentru sisteme intensive: St. Julien A, portaltoi semi-viguros, utilizat pe scara extinsă pentru livezi intensive (Botu și colab., 1998) și Mirobolan 29C, utilizat datorită adaptabilității sale la diferite tipuri de sol și compatibilității ridicate la altoire (Mazilu și colab., 2014). Totuși, compatibilitatea la altoire dintre Mirobolan 29C și unele soiuri derivate din Tuleu gras este deficitară (Zagrai și Zagrai, rezultate nepublicate). Introducerea acestor portaltoi clonali, atât străini, cât și autohtoni, a permis reducerea distanțelor de plantare la 4×3 m, 4×2,5 m sau chiar 3,5×1,5 m, corespunzătoare unor densități de 800–1900 pomi/ha. Controlul vigoriei a făcut posibilă formarea unor coroane de tip fus subțire, ax vertical sau vas aplatizat, facilitând mecanizarea tăierilor, a tratamentelor fitosanitare și a recoltării fructelor (Singh și colab., 2024).

2. Rolul materialului de înmulțire din categoriile biologice superioare în pomicultura modernă

Obținerea fructelor de calitate superioară și atingerea potențialului maxim de producție al soiurilor speciilor pomice sunt adesea limitate de prezența agenților patogeni, în special a virusurilor cu impact economic major. Valorificarea eficientă a producției și obținerea unor prețuri competitive depind de respectarea unor standarde ridicate de calitate, ceea ce presupune livezi sănătoase și un control riguros al stării fitosanitare. În acest context, un rol determinant îl are materialul de plantare utilizat la înființarea plantațiilor pomice, care trebuie să provină din categoriile biologice superioare, să fie certificat conform noilor reglementări, respectiv cu status fitosanitar indemn, garantând astfel uniformitatea biologică, stabilitatea productivă și exprimarea integrală a potențialului genetic al soiurilor cultivate.

2.1. Categoriile biologice ale materialului de înmulțire fructifer

Categoriile biologice superioare ale materialului de înmulțire – PREBAZĂ, BAZĂ și CERTIFICAT – reprezintă nivelurile oficial recunoscute în sistemele moderne de producere a materialului de plantare, având ca scop asigurarea identității genetice, a purității biologice și a unui status fitosanitar indemn.

Obținerea și menținerea materialului din aceste categorii se realizează în conformitate cu standardele stabilite de Organizația Europeană și Mediteraneană pentru Protecția Plantelor (OEPP/EPP) și cu directivele europene transpuse în legislația națională. Aplicarea acestor norme constituie un element esențial pentru asigurarea calității materialului de plantare utilizat la înființarea plantațiilor pomice. Utilizarea materialului de înmulțire provenit din surse certificate asigură integritatea genetică și sanitară a soiurilor, limitează transmiterea agenților patogeni sistemici, în special a virusurilor și fitoplasmelor. În schimb, utilizarea materialului necertificat, potențial infectat poate compromite viabilitatea plantațiilor și reduce potențialul productiv al acestora, generând pierderi economice semnificative și descurajând investițiile ulterioare în sectorul pomicol.

2.2. Situația la nivel internațional

Importanța economică a producției materialului de înmulțire liber de virusuri a fost recunoscută încă de la mijlocul secolului trecut, când în Statele Unite au fost inițiate primele programe organizate în acest domeniu.

În Europa, primele inițiative au apărut în anii '60 la East Malling (Marea Britanie), odată cu lansarea programului EMLA Scheme (Maxim și colab., 2003). Ulterior, instituții din Franța, Italia, Olanda au dezvoltat propriile sisteme de certificare, bazate pe proceduri stricte de control a identității varietale și a stării fitosanitare.

În Franța, Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes (CTIFL) coordonează controlul și certificarea materialului de înmulțire pomicol (ctifl.fr).

Sistemul INFEL® administrat de această instituție garantează respectarea standardelor europene și franceze privind materialul săditor, inclusiv absența agenților patogeni specifici (kosmospublishers.com).

În Italia, Centro Attività Vivaistiche (CAV) Tebano este un centru de multiplicare recunoscut de Ministerul Italian al Agriculturii și de Uniunea Europeană pentru producerea materialului săditor certificat (cavtebano.it). Acesta este principalul centru italian în conservarea materialului de înmulțire la numeroase specii pomicole. Activitatea sa se bazează pe utilizarea tehnicilor de culturi *in vitro* și a testărilor serologice pentru asigurarea materialului săditor liber de virusuri, colaborând cu laboratoare autorizate și autorități fitosanitare regionale ([Battistini Vivai](http://BattistiniVivai)).

În Olanda, Naktuinbouw este autoritatea responsabilă pentru inspecția și certificarea materialului de înmulțire horticola, inclusiv a pomilor fructiferi, conform standardelor naționale și europene (www.naktuinbouw.com).

În Germania, producerea și certificarea materialului de înmulțire pomicol sunt coordonate printr-un sistem descentralizat, în care institutele de cercetare și autoritățile regionale colaborează strâns. Julius Kühn-Institut (JKI) are un rol central în elaborarea protocoalelor de diagnostic pentru virusuri și fitoplasme, în concordanță cu standardele OEPP (www.julius-kuehn.de/en/).

În Spania, sistemul de certificare este coordonat de Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, în colaborare cu centre regionale de cercetare (<https://www.mapa.gob.es/en/>). Un exemplu relevant este Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), care dezvoltă programe de obținere și menținere a materialului de înmulțire liber de agenți patogeni prin tehnici de culturi *in vitro* și diagnostic molecular (ivia.gva.es/es/centro-de-proteccion-vegetal-y-biotecnologia).

În Austria, certificarea materialului de înmulțire revine Oficiului Federal pentru Siguranța Alimentară (BAES) (www.baes.gv.at/en/certification/planting-material) care aplică un sistem strict de monitorizare fitosanitară în conformitate cu legislația UE și recomandările OEPP.

În Belgia, ILVO (Flanders Research Institute for Agriculture, Fisheries and Food) realizează activități de cercetare aplicată și diagnostic fitosanitar prin Diagnostic Centre for Plants, contribuind la identificarea bolilor și dăunătorilor la plante (www.ilvodiagnosecentrumvoorplanten.be/en/).

În Republica Cehă, Research and Breeding Institute of Pomology Holovousy conservă resurse genetice de pomi fructiferi și realizează testarea materialului de înmulțire prin tehnici moderne, sprijinind programele naționale de certificare (www.vsuo.cz/en/).

Ansamblul acestor inițiative evidențiază un cadru european bine structurat, în care producerea și certificarea materialului de înmulțire indemn se bazează pe standarde unitare, infrastructură de cercetare și control riguros, cu impact direct asupra sustenabilității și competitivității pomiculturii.

2.3. Provocări și perspective în România

Uniunea Europeană impune cerințe unitare privind siguranța fitosanitară și trasabilitatea materialului de înmulțire, solicitând statelor membre aplicarea schemelor de certificare și a standardelor OEPP. În acest context, România are obligația de a asigura producerea materialului de înmulțire pomicol în conformitate cu reglementările europene. În România, prima schemă de obținere a materialului săditor pomicol liber de viroze a fost elaborată în 1971 de dr. ing. Nicolae Minoiu la Stațiunea de Cercetare și Producție Pomicolă Bistrița. Schema includea pretestări pe indicatori biologici, testări serologice și proceduri de devirozare, urmate de conservarea materialului nucleu în biodepozitare (Minoiu, 1973a; Minoiu și colab., 1982, 1994). Această activitate a stat la baza dezvoltării sistemului național de producere a materialului liber de virusuri și a contribuit la perfecționarea metodelor de detecție și devirozare a soiurilor pomicole. Ulterior, în contextul armonizării cu recomandările OEPP, schema inițială de certificare a fost revizuită și adaptată, proces la care Stațiunea Bistrița a avut un rol important (Parnia și colab., 1999).

Cercetările privind detecția virusurilor, devirozarea soiurilor și conservarea materialului liber de virusuri au continuat în cadrul Stațiunii de Cercetare-Dezvoltare pentru Pomicultură (SCDP) Bistrița (Minoiu și colab., 1994; Maxim și colab., 2002; Zagrai I. și colab., 2013; Zagrai L. și colab., 2013, 2024), precum la ICDP Pitești-Mărăcineni (Parnia și colab., 1999; Coman și colab., 2022).

Perioada 1990–2000 a fost însă marcată de subfinanțarea severă a programelor de producere a materialului săditor din categoriile biologice superioare, iar după anul 2000 finanțarea a fost în mare parte întreruptă. Această situație a condus la slăbirea controlului fitosanitar, degradarea plantațiilor mamă libere de virusuri și pierderea, în unele cazuri, a materialului nucleu valoros (Zagrai I. și colab., 2013).

Aderarea României la Uniunea Europeană a impus armonizarea cadrului legislativ național cu legislația europeană în domeniul materialului de înmulțire și al protecției fitosanitare. În domeniul materialului fructifer, cadrul național a fost inițial armonizat cu prevederile Directivei 92/34/CEE și ale directivelor sale de aplicare. Cadrul european a fost ulterior reformat prin Directiva 2008/90/CE și actele sale de punere în aplicare. În domeniul protecției fitosanitare, cadrul actual este fundamentat în principal pe Regulamentul (UE) 2016/2031 și Regulamentul de punere în aplicare (UE) 2019/2072. În acest context, SCDP Bistrița a continuat să dezvolte activități de obținere, menținere și certificare a materialului de înmulțire liber de virusuri, iar mai apoi indemn, contribuind la implementarea practică a standardelor europene pentru specia prun. Consolidarea sistemului național de producere a materialului de înmulțire pomicol necesită integrarea metodelor moderne de diagnostic și devirozare, extinderea materialului nucleu și la alte specii, precum și susținerea activității stațiunilor de cercetare, care reprezintă furnizori strategici de material săditor pentru dezvoltarea unei pomiculturi competitive și sustenabile.

3. Cadrul legislativ și schemele de certificare în producerea materialului de înmulțire la prun

Noua legislație din domeniu impune ca materialul de înmulțire și plantare fructifer utilizat în pomicultură să respecte standardele europene privind identitatea varietală, starea fitosanitară și trasabilitatea. Cadrul normativ se bazează pe Directiva 2008/90/CE a Consiliului privind *comercializarea materialului de înmulțire și plantare fructifer destinat producției de fructe* și pe Directiva de punere în aplicare 2014/98/UE a Comisiei, modificată ulterior prin Directiva (UE) 2020/177 și completată prin Directiva (UE) 2025/145.

În legislația națională, principalele acte normative care reglementează acest domeniu sunt:

- Ordinul MADR nr. 784/2016 privind *cerințele specifice pentru genurile și speciile de plante fructifere* menționate în anexa I la Directiva 2008/90/CE, precum și *cerințele aplicabile furnizorilor și normele privind inspecțiile oficiale*;
- Ordinul MADR nr. 119/2020, care introduce modificări și completări ale cadrului normativ existent;
- Ordinul MADR nr. 40/2023 privind modificarea și actualizarea prevederilor Ordinului nr. 784/2016;
- Ordinul MADR nr. 92/2025, care consolidează și actualizează cadrul legislativ aplicabil.

3.1. Principii și cerințe în producerea materialului de înmulțire

În cadrul legislativ actual, producerea materialului de înmulțire și plantare fructifer se bazează pe câteva principii fundamentale: asigurarea autenticității varietale, menținerea stării fitosanitare corespunzătoare, garantarea calității biologice a materialului și aplicarea unui sistem riguros de multiplicare, trasabilitate, reînnoire și menținere a materialului biologic. Respectarea acestor cerințe constituie baza sistemului de certificare a materialului săditor pomicol și asigură utilizarea în plantațiile comerciale a unui material sănătos și autentic.

Autenticitatea varietală

Autenticitatea soiului este stabilită prin raportare la descrierea oficială a acestuia. Pentru soiurile înregistrate în registrele naționale sau protejate prin drepturi de proprietate asupra soiurilor de plante, autentificarea se realizează pe baza descrierilor oficiale existente în aceste registre. În cazul soiurilor aflate în procedură de înregistrare, se utilizează descrierea care însoțește cererea depusă pentru înscriere în catalogul oficial sau pentru obținerea protecției juridice. Dacă soiul este deja înregistrat într-un registru național, autentificarea se face prin raportare la descrierea recunoscută oficial. Verificarea autenticității varietale se realizează periodic de către organismele competente, în cadrul sistemului oficial de control.

Starea fitosanitară

Menținerea sănătății materialului biologic reprezintă o condiție esențială în producerea materialului de înmulțire. Plantele mamă și materialul din categoria PREBAZĂ trebuie să fie produse și menținute indemne de organisme dăunătoare.

În cazul speciei **prun**, în procesul de producere a plantelor mamă, indiferent de categoria biologică - PREBAZĂ, BAZĂ sau CERTIFICAT - se impune ca materialul să fie indemn de organismele dăunătoare menționate în Anexa 1 (Tab. 1) și Anexa 2 (Tab. 2) conform O.M. nr. 92/2025. Acestea includ bacterii, ciuperci, oomicete, insecte, acarieni și nematozi, precum și virusuri și fitoplasme care pot afecta starea fitosanitară a materialului vegetal.

În categoria organismelor reglementate de non-carantină (ORNC) sunt incluse, la prun, conform Anexei 1 din O.M. 92/2025 (Tab. 1) bacteriile *Agrobacterium tumefaciens* și *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum*, ciupercile și oomicete *Verticillium dahliae* și *Phytophthora cactorum*, insectele *Pseudaulacaspis pentagona* și *Quadraspidiotus perniciosus*, precum și nematozii din genurile *Meloidogyne* și *Pratylenchus*.

Tabelul 1

Lista ORNC*-urilor a căror prezență trebuie stabilită prin inspecție vizuală și în caz de îndoieli, prin eșantionare și testare la prun

Categoria de organisme dăunătoare	Organisme dăunătoare
Bacterii	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Smith & Townsend) Conn <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>morsprunorum</i> (Wormald) Young, Dye & Wilkie
Ciuperci și oomicete	<i>Verticillium dahliae</i> Kleb <i>Phytophthora cactorum</i> (Lebert & Cohn) J. Schroter
Insecte	<i>Pseudaulacaspis pentagona</i> Targioni- Tozzetti <i>Quadraspidiotus perniciosus</i> Comstock
Nematozi	<i>Meloidogyne arenaria</i> Chitwood <i>Meloidogyne incognita</i> (Kofold & White) Chitwood <i>Meloidogyne javanica</i> Chitwood <i>Pratylenchus penetrans</i> (Cobb) Filipjev & Schuurmans-Stekhoven <i>Pratylenchus vulnus</i> Allen & Jensen

*ORNC-organisme reglementate care nu sunt de carantină

În cazul prunului și al altor specii de *Prunus* susceptibile, legislația prevede monitorizarea unor virusuri și fitoplasme cu impact major asupra sănătății materialului de înmulțire, conform Anexei 2 din O.M. nr. 92/2025 (Tab. 2). Prezența acestor ORNC-uri este verificată prin inspecții vizuale periodice și, atunci când este necesar, prin eșantionare și testare de laborator.

Tabelul 2

Lista ORNC-urilor a căror prezență trebuie stabilită prin inspecție vizuală și în anumite cazuri prin eșantionare și testare

Specia	Organisme dăunătoare	Acronim
<i>Prunus domestica</i> L., <i>P. salicina</i> și alte specii de <i>Prunus</i> susceptibile la PPV în cazul hibrizilor de <i>Prunus</i>	Virusuri	
	<i>Potyvirus plumpoxi</i> (Plum pox virus), Virusul vărsatul prunului	PPV
	<i>Ilarvirus PDV</i> (Prune dwarf virus), Virusul piticirii prunului	PDV
	<i>Ilarvirus PNRSV</i> (<i>Prunus</i> necrotic ringspot virus), Virusul pătării necrotice inelare la prun	PNRSV
	<i>Ilarvirus ApMV</i> (Apple mosaic virus), Virusul mozaicului mărului	ApMV
	<i>Trichovirus mali</i> (Apple chlorotic leaf spot virus), Virusul pătării clorotice a frunzelor mărului	ACLSV
	<i>Nepovirus cerasiferae</i> (Myrobalan latent ringspot virus), Virusul latent al pătării inelare a mirobolanului	MLRSV
	<i>Nepovirus lycopersici</i> (Tomato ringspot virus), Virusul pătării inelare a tomatelor	ToRSV
	Fitoplasme	
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma prunorum Seemuleler & Schneider	PHYPPR
	Bacterii	
	<i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>pruni</i> (Smith) Vauterin et al.	XANTPR

Calitatea biologică

Materialul din categoriile biologice superioare trebuie să fie lipsit de defecte care ar putea afecta calitatea acestuia, cum ar fi leziuni, decolorări sau alte simptome fiziologice sau patologice. Menținerea unei calități biologice ridicate este esențială pentru asigurarea viabilității și uniformității materialului utilizat în pepiniere și plantații comerciale.

Multiplicarea și reînnoirea materialului biologic

Producerea materialului de înmulțire se realizează într-un sistem ierarhizat, care pornește de la categoria PREBAZĂ și continuă cu categoriile BAZĂ și CERTIFICAT. Materialul din categoria PREBAZĂ este obținut prin metode clasice de înmulțire sau prin microînmulțire *in vitro* (micropropagare), în conformitate cu protocoalele OEPP sau cu alte protocoale recunoscute la nivel internațional. Reînnoirea plantelor mamă din această categorie se realizează înainte de expirarea perioadei stabilite de utilizare.

Categoria BAZĂ se obține din material PREBAZĂ, printr-un număr limitat de generații de multiplicare, realizate prin macropropagare sau micropropagare. Pentru

Prunus domestica și *Prunus salicina*, numărul maxim admis de generații cultivate în câmp, în absența condițiilor de protecție împotriva insectelor, este de două generații pentru plantele-mamă destinate producerii ramurilor altoi și de trei generații pentru plantele-mamă destinate producerii portaltoilor. În cazul portaltoilor, materialul utilizat trebuie să provină din prima generație de material BAZĂ. Materialul aparținând unor generații diferite se menține separat, pentru a asigura trasabilitatea.

Menținerea materialului de înmulțire PREBAZĂ

La categoria PREBAZĂ, materialul biologic este menținut în condiții controlate, în spații special amenajate pentru genurile și speciile respective și protejate împotriva insectelor vectori. Plantele sunt identificate individual prin etichete care permit trasabilitatea și sunt cultivate izolat de sol, în ghivece cu substraturi sterile, pentru a preveni contaminarea cu organisme dăunătoare.

Utilizarea plantelor mamă este limitată la o perioadă determinată, stabilită în funcție de stabilitatea soiului, condițiile de mediu și alți factori care pot influența menținerea caracterelor genetice. Prin derogare, un stat membru poate fi autorizat să producă plante mamă PREBAZĂ și material PREBAZĂ în câmp, pentru anumite genuri și specii unde se iau măsuri adecvate pentru a preveni infectarea plantelor prin vectori aerieni, prin contact la nivelul rădăcinilor, prin infectarea încrucișată produsă de mașini, prin instrumente de altoire etc.

Monitorizarea stării fitosanitare se realizează prin inspecții vizuale periodice și prin programe de testare. În cazul prunului, plantele mamă din categoria PREBAZĂ sunt inspectate vizual de două ori pe an pentru depistarea simptomelor asociate unor agenți patogeni importanți, precum *Candidatus Phytoplasma prunorum*, *Potyvirus plumexi*, *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* și *Pseudomonas syringae* pv. *persicae*. Pentru celelalte organisme reglementate, inspecțiile vizuale se efectuează cel puțin o dată pe an. În plus, materialul PREBAZĂ este supus unui program riguros de eșantionare și testare pentru virusuri și fitoplasme.

Pentru ca materialul de înmulțire și plantare fructifer din categoria PREBAZĂ de *Prunus domestica* L. să poată fi certificat trebuie să provină de la plante mamă care au fost testate în cursul perioadei anterioare de vegetație și care au fost declarate indemne de PPV. În plus, portaltoii PREBAZĂ vor proveni de la plante mamă care au fost testate în cadrul celor cinci perioade anterioare de vegetație și care au fost declarate indemne de *Candidatus Phytoplasma prunorum*. De asemenea, având în vedere pericolul virusurilor, fiecare plantă mamă PREBAZĂ înflorită este eșantionată și testată la un an de la acceptarea ei ca plantă mamă PREBAZĂ și, ulterior, la intervale de un an în ceea ce privește prezența PDV și a PNRSV.

Fiecare plantă mamă PREBAZĂ este eșantionată după 10 ani de la acceptarea acesteia ca plantă mamă PREBAZĂ și, ulterior, la intervale de 10 ani și este testată pentru ORNC-urile relevante pentru specia respectivă (Tab. 2), altele decât PPV, PDV și PNRSV, iar în cazul unor îndoieli, este testată pentru a verifica prezența ORNC-urilor

enumerate în tabelul 1. O parte reprezentativă a plantelor mamă PREBAZĂ este eșantionată și testată, în caz de îndoieli, în ceea ce privește prezența *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*.

Cerințe privind situl de producție. În cazul în care, printr-o derogare, se permite producerea de material PREBAZĂ într-un câmp fără protecție împotriva insectelor, se aplică următoarele cerințe: materialul de înmulțire și plantare fructifer din categoria PREBAZĂ este produs în zone cunoscute ca fiind indemne de PPV, ToRSV, *Candidatus Phytoplasma prunorum*, *Pseudomonas syringae* pv. *persicae* și *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* sau nu se observă simptome pe materialul de înmulțire și plantare fructifer în cursul ultimei perioade complete de vegetație, iar toate plantele simptomatice din imediata vecinătate au fost scoase și distruse imediat. În acest caz, materialul de înmulțire și plantare fructifer este izolat de alte plante-gazdă.

Distanța de izolare a sitului de producție depinde de circumstanțele regionale, de tipul de material de înmulțire, de prezența agenților patogeni enumerați în zona în cauză, precum și de riscurile relevante, astfel cum sunt stabilite de autoritățile competente pe baza inspecției.

Menținerea materialului de înmulțire BAZĂ

La categoria BAZĂ, inspecțiile vizuale se efectuează cel puțin o dată pe an. În funcție de modul de menținere a plantelor mamă, testarea se realizează la intervale diferite. Dacă plantele sunt menținute în spații protejate împotriva insectelor, o parte reprezentativă a acestora este testată periodic pentru principalele virusuri (PPV, PDV și PNRSV) și fitoplasme (*Candidatus Phytoplasma prunorum*).

Dacă plantele sunt cultivate în câmp, în zone izolate de surse de infecție, se aplică programe anuale de eșantionare pentru virusuri cu importanță majoră, în special PPV, precum și programe periodice de testare pentru alte organisme reglementate. În acest caz, o parte reprezentativă a plantelor mamă BAZĂ, altele decât cele destinate producției de portaltoi, este eșantionată în fiecare an și testată în ceea ce privește prezența PPV, astfel încât toate plantele să fie testate într-un interval de 10 ani.

O parte reprezentativă a plantelor mamă BAZĂ destinate producției de portaltoi este eșantionată în fiecare an și testată în ceea ce privește prezența PPV și declarată indemnă de ORNC-ul respectiv. De asemenea, o parte reprezentativă a plantelor mamă trebuie eșantionată și testată în cursul celor cinci perioade anterioare de vegetație în ceea ce privește prezența *Candidatus Phytoplasma prunorum* și trebuie să fie declarată indemnă de ORNC-ul respectiv. Totodată, o parte reprezentativă a plantelor mamă bază este eșantionată și testată în caz de îndoieli în ceea ce privește prezența *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*.

La fiecare 20 de ani se eșantionează și se testează pe baza unei evaluări a riscului de infectare a plantelor dintr-un eșantion reprezentativ pentru ToRSV. Pe baza unei evaluări a riscului de infectare, la intervale de 10 ani se efectuează eșantionarea și

testarea pentru depistarea ORNC-urilor enumerate în tabelul 2, cu excepția PPV, PDV, PNRSV, ToRSV și *Candidatus* Phytoplasma prunorum. De asemenea, eșantionarea și testarea se efectuează ori de câte ori există suspiciuni privind prezența ORNC-urilor enumerate în tabelul 1.

O parte reprezentativă a plantelor mamă BAZĂ înflorite este eșantionată în fiecare an și testată în ceea ce privește prezența PDV, PNRSV și *Candidatus* Phytoplasma prunorum pe baza unei evaluări a riscului de infectare a plantelor respective. Pentru plantele mamă neînflorite se eșantionează și testează la fiecare trei ani în ceea ce privește prezența PDV, PNRSV și *Candidatus* Phytoplasma prunorum, pe baza unei evaluări a riscului de infectare a plantelor respective.

Cerințe privind situl de producție. Materialul de înmulțire și plantare din categoria BAZĂ este produs fie în zone recunoscute ca fiind indemne de PPV, ToRSV, *Candidatus* Phytoplasma prunorum, *Pseudomonas syringae* pv. *persicae* și *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, fie în situri de producție în care, pe parcursul ultimei perioade complete de vegetație, nu s-au observat simptome ale acestor agenți patogeni pe materialul de înmulțire și plantare, iar toate plantele simptomatice din imediata vecinătate au fost eliminate și distruse imediat.

Distanța de izolare a sitului de producție depinde de circumstanțele regionale, de tipul de material de înmulțire, de prezența agenților patogeni enumerați în zona în cauză, precum și de riscurile relevante, astfel cum sunt stabilite de autoritățile competente pe baza inspecției.

Instituțiile abilitate pentru supravegherea aplicării și respectării acestor cerințe vitale pentru asigurarea unui material de înmulțire „conform norme și standarde UE” sunt Inspecția Națională pentru Calitatea Semințelor prin Inspectoratele teritoriale pentru calitatea semințelor și materialului săditor și Autoritatea Națională Fitosanitară prin Oficiul Fitosanitar existent la nivel de județ.

3.2. Scheme de certificare și standarde fitosanitare

Pentru a asigura o calitate superioară materialului săditor pomicol, OEPP a stabilit standarde care acoperă atât schemele de certificare, cât și criteriile pentru selecția pomologică, producerea și menținerea materialului de înmulțire de tip nucleu. Acestea includ și regulile pentru obținerea ramurilor altoi și a pomilor din categoriile biologice superioare la speciile sâmburoase cu fruct mare [PM 4/30(1)] (EPPO, 2001). Astfel, în figura 5 este redat fluxul complet de obținere a materialului de înmulțire (PREBAZĂ și BAZĂ) și plantare (CERTIFICAT) la speciile pomicele sâmburoase cu fructul mare, din care face parte și prunul, din momentul selecției plantei inițiale până la livrarea materialului final din pepinieră. Procesul presupune o succesiune riguroasă de etape, începând cu selecția materialului autentic (planta inițială) pretestat din punct de vedere virotic și care în urma altoirii pe portaltoi este încadrat ca material Prebază-Candidat.

Acest material este menținut în ghivece, într-un substrat steril, pentru a preveni potențiale contaminări ulterioare prin intermediul solului.

În situația în care testele de laborator pentru detectarea agenților patogeni virali specifici speciei vizate, în cazul de față, prunul, precum și analizele de sol care confirmă absența nematozilor, conform standardului PM 4/35(1) (EPPO, 2009), indică rezultate negative, materialul este încadrat la categoria biologică superioară PREBAZĂ, denumită și ‘material-nucleu’.

În cazul în care testele evidențiază prezența unei infecții, materialul este eliminat din schemă. În paralel, materialul infectat este supus unor proceduri de devirozare, precum termoterapia, chimioterapia sau tehnicile combinate de termo-chimio-terapie, urmate de retestare. Doar materialul care confirmă absența agenților patogenilor menționați în legislația și standardele fitosanitare în vigoare poate fi certificat la categoria PREBAZĂ.

Stadiul de PREBAZĂ furnizează material de înmulțire (ramuri altoi, portaltoi) pentru stocul de propagare (BAZĂ), adică plantația mamă (ramuri altoi/marcotiere/seminceri). Aici sunt două niveluri biologice: Bază G1 și Bază G2. Dacă discutăm de plantații mamă de ramuri altoi, fiecare generație produce material de înmulțire (ramuri altoi) în condiții controlate, pe portaltoi conform schemei de certificare. În lanțul de producere urmează materialul de înmulțire CERTIFICAT, utilizat pentru a obține în pepiniere material de plantare ‘Certificat’, cu trasabilitate completă și garantat sănătos.

În schema de certificare PM 4/30(1) (EPPO, 2001) sunt descrise, în aceeași manieră, etapele prin care se obține și se produce materialul de înmulțire din categoriile biologice superioare - PREBAZĂ și BAZĂ - pentru portaltoi (Fig. 6), la speciile sâmburoase cu fruct mare (prun, cais, piersic și migdal).

Standardele de certificare sunt completate de protocoalele de diagnostic serologic prin testul ELISA [PM 7/125(2)] (EPPO, 2025a) și molecular prin tehnicile IC-/RT-PCR și/sau nested-PCR pentru *Potyvirus plumpoxi* [PM 7/32(2)] (EPPO, 2023), *Candidatus Phytoplasma prunorum* [PM 7/62(3)] (EPPO, 2020a), *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* [PM 7/64(2)] (EPPO, 2021) și *Verticillium dahliae* [PM 7/78(2)] (EPPO, 2020b).

În procesul de obținere a materialului de înmulțire PREBAZĂ, pe lângă tehnicile serologice/moleculare, materialul ‘Prebază-Candidat’ este verificat și prin indexare pe indicatori biologici specifici (vezi 4.1.3. Metode biologice).

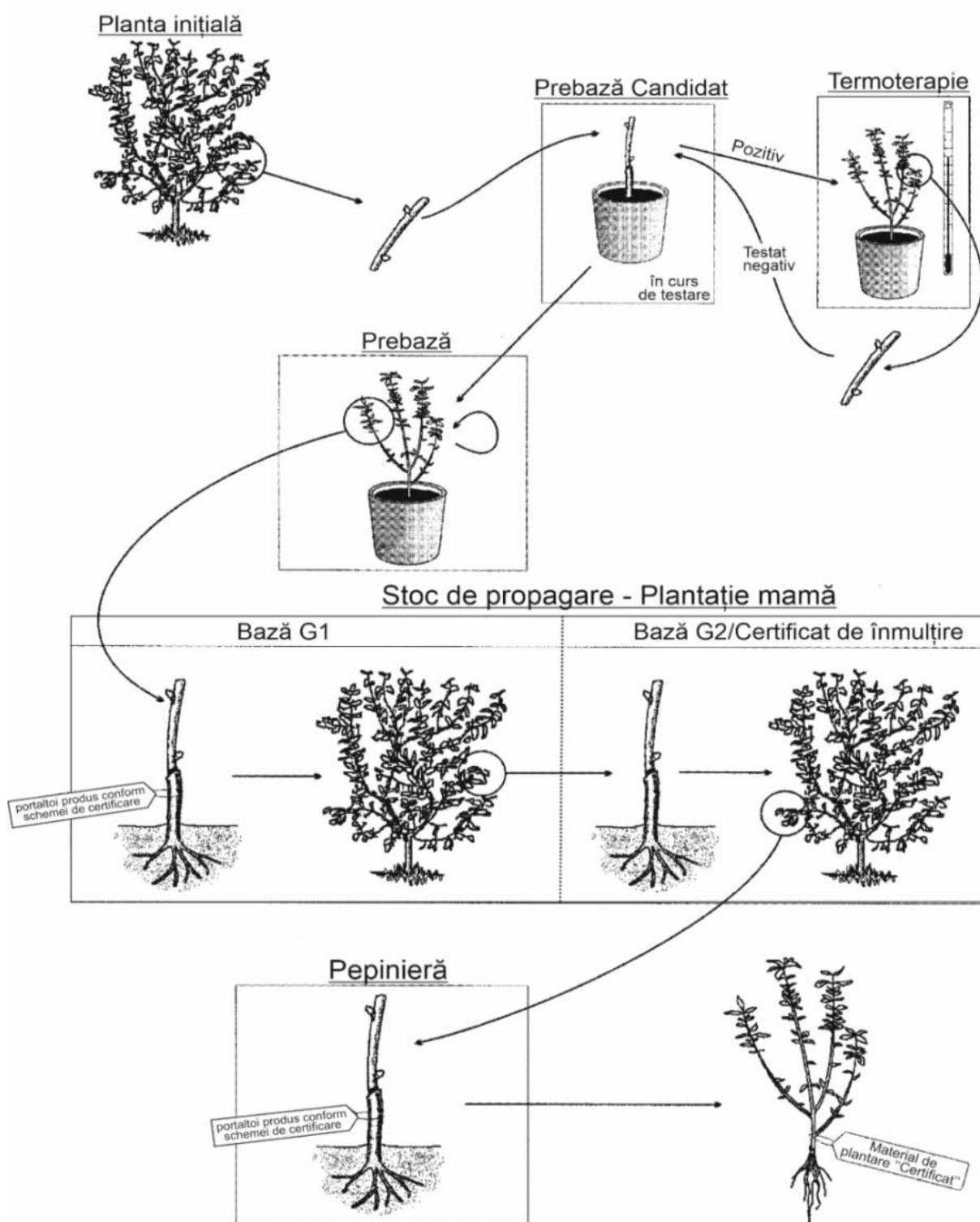


Figura 5. Schema de certificare pentru producerea de ramuri altoi și pomi din categoriile biologice Prebază și Bază pentru speciile pomicele sâmburoase cu fructul mare [Sursa: EPPO Standards, PM 4/30 (1), 2001]

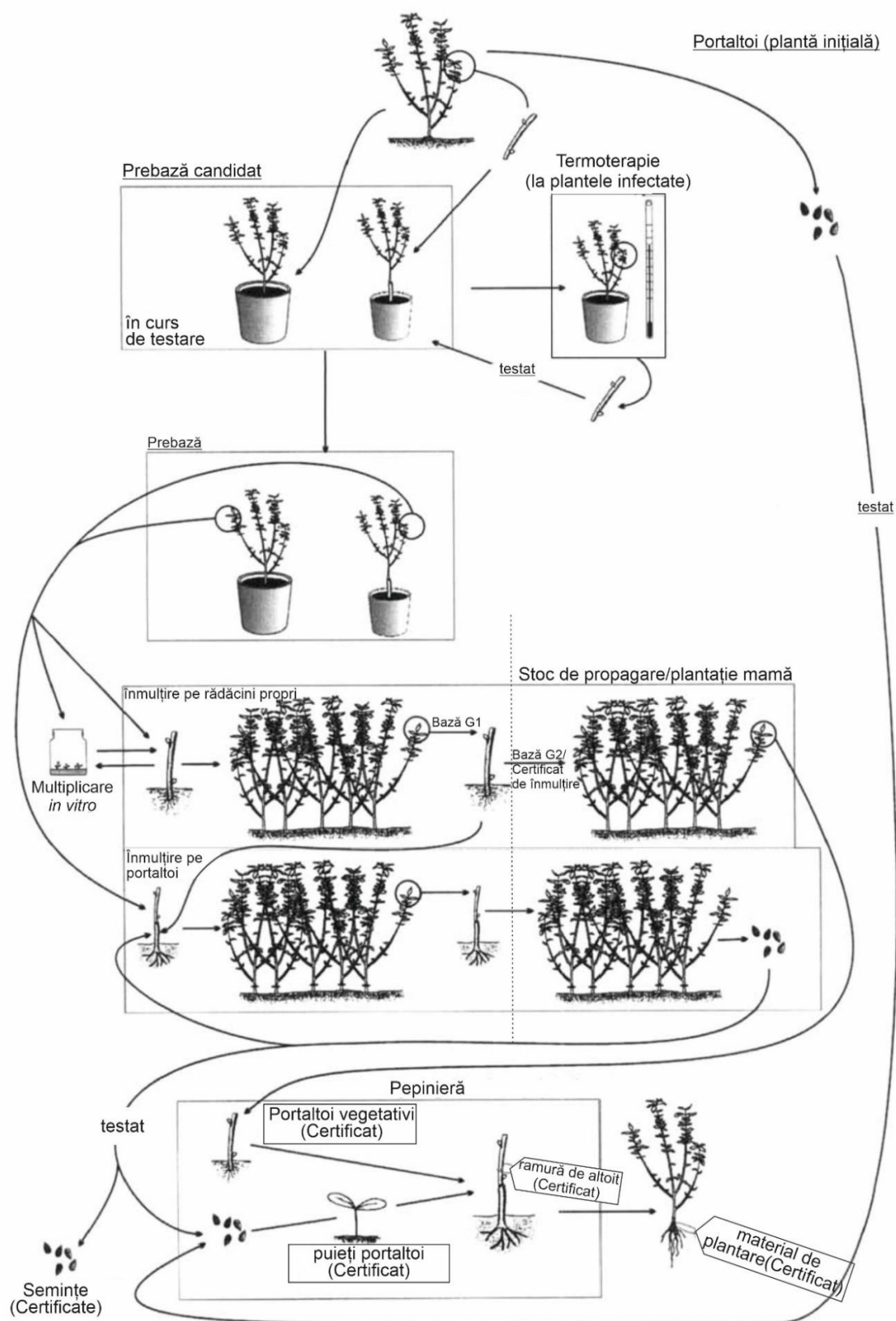


Figura 6. Schema de certificare pentru producerea de portaltoi din categoriile biologice Prebază și Bază pentru speciile pomicele sâmburoase cu fructul mare

[Sursa: EPPO Standards, PM 4/30 (1), 2001]

3.3. Implementarea noii legislații la specia prun în România

Calitatea superioară a fructelor este în strânsă legătură cu sănătatea plantațiilor pomicele, și care depinde de calitatea materialului săditor folosit la plantare. Din nefericire, speciile pomicele sâmburoase, și în special prunul, sunt afectate de patogeni virali cu impact economic major, virusul plum pox fiind de departe cel mai păgubitor agent patogen viral, care reduce calitatea și potențialul productiv al soiurilor cultivate. Una dintre cele mai eficiente măsuri preventive pentru limitarea pierderilor provocate de agenții patogeni este utilizarea materialului de plantare din categoria biologică ‘Certificat’, care trebuie să garanteze absența infecțiilor.

Implementarea standardelor internaționale și a prevederilor din noua legislație referitoare la obținerea și menținerea materialului de înmulțire și plantare fructifer, la specia prun, presupune integrarea celor mai moderne și performante tehnici de detecție virotică, de conservare în biodepozitare și *in vitro* a materialului nucleu, precum și aplicarea metodelor de devirozare a soiurilor și portaltoilor de mare valoare și interes practic, dar care sunt infectați cu virusuri.

3.3.1. Statusul fitosanitar al materialului de înmulțire

Optimizarea metodologiei de producere a materialului de înmulțire cu status indemn, în concordanță cu noul cadru legislativ, implică reconfigurarea schemei de certificare conform reglementărilor actuale. În acest context, categoria *virus tested* din legislația anterioară este eliminată, iar statusul *virus free* (VF) este înlocuit cu cel de **indemn**.

Certificarea materialului cu status indemn se realizează în conformitate cu standardele OEPP și a legislației în vigoare. Pe lângă virusurile supuse inspecției vizuale și testării pe indicatori biologici și prin metode serologice și moleculare, materialul de înmulțire este obligatoriu monitorizat și pentru prezența bacteriilor, fungilor și a dăunătorilor specifici.

La specia prun, obținerea și menținerea plantelor din categoria PREBAZĂ se realizează în condiții strict controlate, menite să conserve statusul fitosanitar inițial al materialului biologic și să reducă la minimum riscul de infectare. În acest scop, plantele sunt menținute în spații protejate împotriva vectorilor de transmitere a agenților patogeni virali și crescute în ghivece cu substrat steril, complet izolat de sol.

De două ori pe an plantele de *Prunus domestica* sunt supuse observațiilor vizuale la următorii agenți patogeni: *Potyvirus plumipoxi* (plum pox virus, PPV), *Candidatus Phytoplasma prunorum*, *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum*, și o dată pe an la toate celelalte ORNC-uri (altele decât cele menționate mai sus), din anexele I și II la Ordinul MADR nr. 784/2016 cu completările și modificările ulterioare, respectiv: *Ilarvirus PDV* (prune dwarf ilarvirus, PDV), *Ilarvirus PNRSV* (Prunus necrotic ring spot virus, PNRSV), *Ilarvirus ApMV* (apple mosaic virus, ApMV), *Trichovirus mali* (apple chlorotic leaf spot virus, ACLSV), *Nepovirus cerasiferae* (myrobalan latent ring spot virus, MLRSV), *Phytophthora cactorum*, *Verticillium dahliae*,

Agrobacterium tumefaciens, *Pseudaulacaspis pentagona* și *Quadraspidiotus perniciosus*. Solul în care sunt obținute și menținute plantele din categoria PREBAZĂ trebuie să fie libere de următoarele specii de nematozi: *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita*, *M. javanica*, *Pratylenicus penetrans* și *P. vulnus*. Ultima completare (Ordinul MADR nr. 92/2025) la Ordinul MADR nr. 784/2016, introduce la *Prunus domestica*, în lista ORNC-urilor, inspecția și la *Nepovirus lycopersici* (tomato ringspot virus, ToRSV).

3.3.2. Etapele producerii materialului de înmulțire

Etapele de obținere a materialului de înmulțire PREBAZĂ și BAZĂ constituie vârful piramidei de producere a materialului săditor (Fig. 7). Acestea reprezintă verigile esențiale din lanțul de multiplicare, de calitate și autenticitate lor depinzând întregul sistem de producere a materialului de înmulțire. Mai mult, respectarea cerințelor stabilite în standardele OEPP pe tot parcursul lanțului de multiplicare garantează menținerea statusului fitosanitar al materialului biologic. Materialul nucleu, denumit PREBAZĂ, reprezintă condiția prealabilă obligatorie pentru obținerea materialului BAZĂ, precursor al materialului de înmulțire și plantare ‘Certificat’.

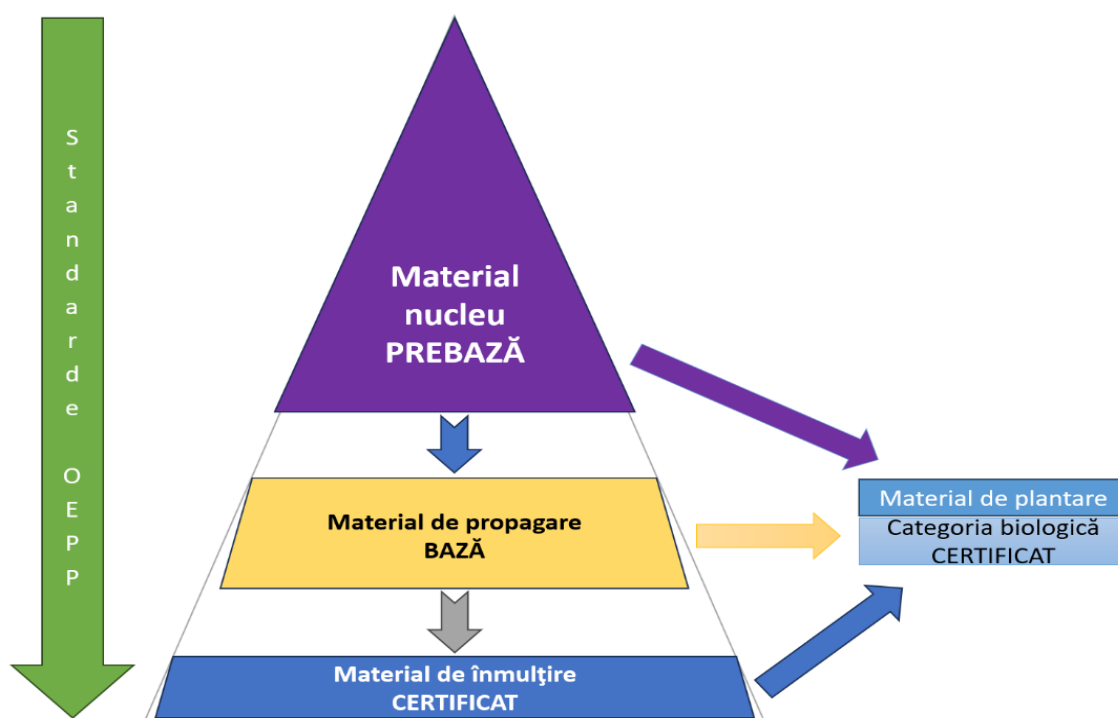


Figura 7. Reprezentarea schematică a piramidei etajate a materialului de înmulțire
(după Zagrai L. și colab., 2024)

Cheia reușitei constă în obținerea materialului nucleu din categoria PREBAZĂ, cu status indemn, o atenție deosebită fiind acordată soiurilor autohtone de prun. Aceasta deoarece, în cazul soiurilor străine, materialul din categorii biologice superioare este adesea disponibil prin programe de certificare deja implementate în țările de origine, în timp ce pentru soiurile românești obținerea materialului PREBAZĂ reprezintă rezultatul unui proces complex de selecție, testare și, dacă este cazul, de devirozare

desfășurat la nivel național. În plus, multe dintre aceste soiuri valoroase nu beneficiază de surse externe de material certificat, ceea ce face esențială conservarea și menținerea lor în colecții nucleu cu status fitosanitar controlat.

Procesul începe cu selectarea unui material biologic autentic, pretestat virotic, utilizat pentru obținerea materialului 'Prebază-Candidat' (Fig. 8). Dacă testările pe indicatori biologici, precum și analizele serologice și/sau moleculare confirmă absența agenților patogeni prevăzuți de legislația în vigoare, materialul 'Prebază-Candidat' poate fi certificat la categoria PREBAZĂ, cu status indemn.

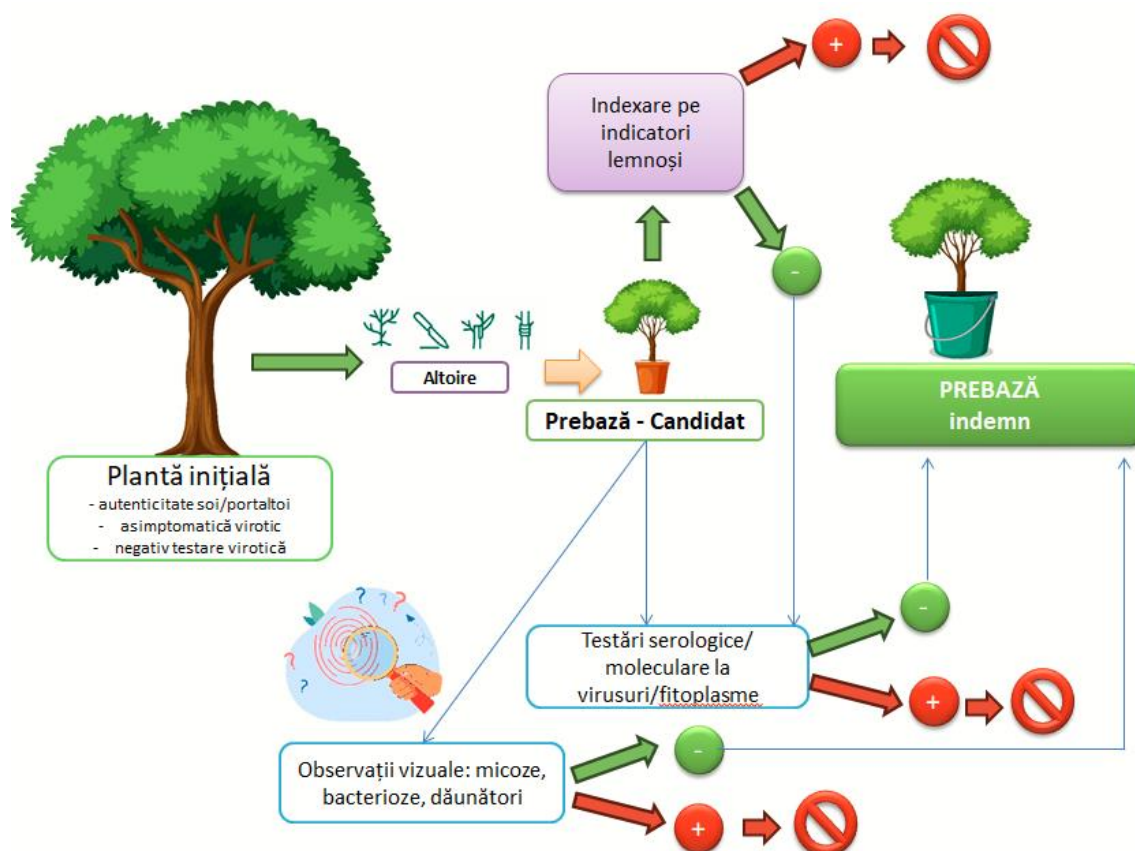


Figura 8. Schema de obținere a materialului de înmulțire din categoria PREBAZĂ cu status indemn (după Zagrai L. și colab., 2024)

Materialul PREBAZĂ constituie elementul fundamental al întregului sistem de certificare și este folosit pentru producerea materialului BAZĂ (stoc de propagare). La rândul său, acesta este utilizat pentru înființarea plantațiilor mamă furnizoare de ramuri altoi sau portaltoi, care reprezintă sursa pentru producerea de material de înmulțire CERTIFICAT sau direct pentru producere pe scară largă a materialului de plantare 'Certificat'. Prin această schemă de multiplicare se asigură menținerea identității genetice, a autenticității varietale și a unui status fitosanitar corespunzător pe întregul lanț de producere a materialului săditor.

4. Metode și tehnici de laborator utilizate în obținerea și menținerea materialului de înmulțire cu status indemn

Un rol deosebit de important în procesul de obținere și menținere a materialului de înmulțire îl au tehnicile de diagnostic fitovirotic, care includ metode serologice și moleculare, completate de testele efectuate pe indicatori biologici. Aceste tehnici permit identificarea precoce a agenților patogeni sistemici și asigură selecția materialului sănătos. În cazul unor soiuri valoroase, dar care însă sunt infectate cu virusuri, esențială este eliminarea acestora prin diferite tehnici de devirozare, cum sunt termoterapia, chimioterapia sau combinațiile termo-chimio-terapeutice.

Odată obținut materialul nucleu, conservarea adecvată a acestuia devine vitală. Asigurarea integrității biologice și fitosanitare pe termen lung a acestui material se realizează prin atât prin conservarea în biodepozitare cu protecție antivectori cât și *in vitro* prin diverse tehnici de conservare.

4.1. Detecția virusurilor și fitoplasmelor

Infecțiile virale la pomii fructiferi sunt adesea complexe, ceea ce impune utilizarea unor metode avansate pentru o diagnosticare cât mai precisă. Un rol esențial îl reprezintă optimizarea și implementarea tehnicilor serologice cu antiseruri policlonale și monoclonale universale și specifice (DAS/DASI-ELISA), precum și a celor moleculare (IC-/RT-PCR, real-time PCR, nested PCR) pentru detecția și/sau diferențierea izolatelor virale și fitoplasmelor.

Simptomele manifestate de plantele infectate cu virusuri sunt, de regulă, insuficiente pentru identificarea directă a agentului patogen. Același virus poate manifesta diferite simptome în funcție de specia pomicolă, soi, tulpină virală, individ, condiții pedoclimatice ș.a., iar, în unele situații, nu apar deloc simptome macroscopice. În foarte multe cazuri infecțiile sunt complexe, ceea ce impune o identificare corectă a virusurilor, dincolo de observațiile vizuale.

În procesul de certificare a materialului de înmulțire se impune folosirea unor metode care să permită o diagnosticare cât mai precisă, folosind tehnici serologice și moleculare laborioase, dar de mare precizie. De asemenea, tehnicile biologice bazate pe indexarea pe plante susceptibile, recunoscute ca indicatori biologici, constituie o metodă complementară de detecție a agenților patogeni virali.

4.1.1. Tehnici serologice

Tehnicile serologice au fost preluate din medicina umană și adaptate pentru studiul virusurilor fitopatogene. Reacția serologică are la bază contactul dintre suspensia virală și antiserul specific, iar evidențierea reacției specifice dintre antigen și antiser se realizează prin diferite teste. Laboratoarele de virusologie de la SCDP Bistrița și ICDP Pitești-Mărăcineni folosesc frecvent tehnica enzimei legată de antigen, denumită ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) (Clark și Adams, 1977) pentru detectarea rapidă a fitovirusurilor. Există numeroase variante ale testului de bază, însă

cea mai des utilizată este *Double Antibody Sandwich* (DAS). Principiul metodei constă în faptul că din componența sandwich-ului *anticorp-antigen-anticorp conjugat*, partea de enzimă specifică hidrolizează substratul și îl colorează, în cazul în care există virus în proba analizată, intensitatea de culoare fiind direct proporțională cu concentrația virală. Detecția se realizează prin intermediul unui fotometru cuplat la un monitor pe care se pot vizualiza rezultatele obținute. Proba analizată se consideră infectată dacă valoarea extincției depășește de două ori media controalelor sănătoase.

Fluxul de lucru al tehnicii DAS-ELISA presupune parcurgerea mai multor etape de lucru, de la peliculizarea plăcii de polistiren cu imunoglobulină specifică virusului țarțhetat, legarea antigenului viral de anticorpul fixat și până la reacția cu conjugatul imunoenzimatic și cu substratul specific, exemplificate schematic în figura 9.



Figura 9. Aspecte din fluxul de lucru al tehnicii DAS-ELISA utilizând antiseruri BIOREBA

a. omogenizarea antiserului; b. pregătirea tamponului de fixare; c. încărcarea plăcii de polistiren cu tampon de fixare; d. fixarea antiserului prin incubare la 30°C; e. spălarea plăcii cu tampon de spălare (3x); f. proba de analizat; g. adăugarea tamponului de extracție; h. extracția sucului celular (antigenul) cu ajutorul omogenizatorului HOMEX 6; i. proba de antigen în punga de extracție; j. pipetarea probei în tub Eppendorf; k. încărcarea plăcii cu antigen și incubarea la 4°C peste noapte, urmată de spălarea plăcii (3x); l. adăugarea complexului enzimatic; m. incubare la 30°C; n. spălarea plăcii cu tampon de spălare (3x); o. adăugarea substratului; p. citirea plăcii la fotometru; q. evidențierea pe monitor a rezultatelor (original)

Pentru diagnosticul serologic se pot folosi atât antiseruri policlonale, cât și monoclonale universale. Extracția sucului celular se poate realiza cu ajutorul aparatului HOMEX 6 (produs de firma Bioreba) care permite extracția unui număr mare de probe într-un timp foarte scurt. Protocoalele de lucru pentru detecția serologică a virusurilor

prin tehnica DAS-ELISA, frecvent utilizate în laboratoarele de virusologie de la SCDP Bistrița și ICDP Pitești-Mărăcineni, se bazează, în principal, pe antiserurile produse de firma Bioreba, dar și de la alte companii, precum Sediag și Agdia. Pentru diferențierea tulpinilor virale, laboratorul de virusologie al SCDP Bistrița utilizează și antiseruri monoclonale universale dezvoltate de IVIA Valencia (Spania).

Sunt considerate probe pozitive cele care au valoarea extincției cel puțin de două ori mai mare decât cea a controlului negativ, dar nu mai mică de 0,1. Citirea rezultatelor se realizează cu ajutorul unui cititor care afișează rezultatele și configurația plăcii ELISA direct pe monitor. Pentru diagnosticul serologic se utilizează următoarele aparate: homex (aparat pentru extracția sucului celular), etuvă, frigider, pipete automate, pipete multicanal, balanțe analitice, centrifugă cu răcire, spălător de plăci, agitator magnetic, vortex, fotometru (cititor ELISA) pentru citirea valorilor extincției. Fotometrul de la SCDP Bistrița este echipat cu software Magelan care permite citirea cu rapiditate și precizie a concentrației virale.

4.1.2. Tehnici moleculare

Din multitudinea de tehnici moleculare utilizate în detecția, diagnosticul și diferențierea virusurilor/fitoplasmelor, Laboratorul de Virusologie al SCDP Bistrița utilizează tehnica PCR cu variantele sale: RT-PCT, IC-RT-PCR și nested PCR.

Tehnica PCR (Polymerase Chain Reaction) poate fi aplicată unei arii largi de agenți patogeni virali (Wetzel și colab., 1991; Hadidi și colab., 1995), printre care și cei specifici prunului. Reacția PCR este un proces enzimatic care realizează amplificarea exponențială a moleculei de ADNc țintă. Deoarece virusurile care infectează prunul fac parte din grupa ribovirusurilor, iar prin intermediul tehnicii PCR ARN-ul nu poate fi amplificat direct, pentru diagnosticare se folosește tehnica RT-PCR (PCR de tip reverstranscripțional). Transcrierea ARN viral în ADN complementar este realizată de către o enzimă denumită *reverstranscriptaza*. Izolarea ARN total sau a ARN viral din probe este primul pas în detecția virusurilor prin tehnici moleculare, la specia prun.

Tehnica **RT-PCR** are sensibilitate mult mai mare în comparație cu tehnica ELISA, însă există dezavantajul că atât izolarea acizilor nucleici, cât și amplificarea sunt mai costisitoare. De aceea, pentru analiza unui număr foarte mare de probe, se recurge adesea doar la tehnica DAS-ELISA.

Metodologia de lucru utilizată la SCDP Bistrița pentru detecția virusurilor prin RT-PCR (după Wetzel și colab., 1991, 1992; Levy și Hadidi, 1994; Olmos și colab., 1997) presupune parcurgerea următoarelor etape:

- a). Extracția ARN-ului total/viral;
 - b). Revers-transcrierea (în cazul ribovirusurilor) și amplificarea cu primeri specifici regiunilor genomice țintă;
 - c). Electroforeza în gel de agaroză.
- a). *Extracția de acizi nucleici*

În cazul ribovirusurilor, investigațiile moleculare vizează ARN-ul total extras din țesuturile analizate. Extracția implică omogenizarea materialului vegetal în azot lichid până la obținerea unei pudre fine și resuspendarea ulterioară într-un tampon de liză pentru a proteja ARN-ul eliberat din celule.

Extracția ARN-ului total din frunzele de prun se poate realiza cu ajutorul kiturilor de extracție de tip *RNeasy Plant Mini Kit* (Qiagen), *E.Z.N.A. Plant RNA* (OmegaBiotek), *Spectrum Plant total RNA* (Sigma) sau alte kituri, protocoalele de lucru fiind recomandate de producători. Procedura de extracție a ARN-ului total poate fi simplificată prin utilizarea unei stații de lucru robotizată (Fig. 10), stație care există în dotarea Laboratorului de Virusologie de la SCDP Bistrița.



Figura 10. Stație de lucru robotizată pentru extracție acizilor nucleici din dotarea SCDP Bistrița

În detecția fitoplasmelor, materialul vegetal analizat este reprezentat de țesuturile floematice și nervurile frunzelor (Fig. 11), iar extracția ADN-ului se realizează folosind diverse kit-uri comerciale de extracție, precum *Dneasy Plant Mini Kit* (Qiagen).

În cazul tehnicii **IC-RT-PCR** (Immunocapture Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) etapa de extracție a ARN-ului total este eliminată prin utilizarea unui antiser specific virusului țintă (Wetzel și colab., 1992). Metoda include o etapă de imunocaptură (IC), în care particulele virale prezente în extractul vegetal sunt captate de anticorpii fixați în prealabil pe suprafața internă a tubului PCR.

Prima etapă este similară principiului testului ELISA, virusul existent în extractul vegetal legându-se specific de anticorpii imobilizați în prealabil pe pereții tubului PCR. Ulterior, prin degradarea proteinei capsidale, genomul viral este eliberat și devine accesibil procesului de transcriere. ARN-ul viral este astfel convertit în ADN complementar (ADNc), care poate fi amplificat ulterior prin reacția PCR, într-un mod similar tehnicii RT-PCR.



Figura 11. Etapa de pregătire a materialului vegetal (floem) pentru extracția ADN-ului
(original)

Cuantificarea purității acizilor nucleici, înainte de amplificare, poate fi realizată cu ajutorul spectrofotometrului NanoDrop, echipament pe care SCDP Bistrița îl are în dotare în cadrul Laboratorului de Virusologie (Fig. 12).



Figura 12. Spectrofotometru NanoDrop 2000c pentru cuantificarea purității acizilor nucleici (SCDP Bistrița)

b). Revers-transcrierea și amplificarea cu primeri specifici

ARN-ul total/viral este utilizat pentru amplificare prin RT-PCR folosindu-se kituri precum *Qiagen One-Step RT-PCR* sau *Bioline MyTaq One-Step RT-PCR*. Aceste kituri permit efectuarea reverstranscrierii (RT) și amplificării (PCR) într-o singură reacție. În amestecul reacțional sunt introduse amorse oligonucleotidice (primeri) specifice virusului și regiunii genomice ce urmează a fi amplificată.

Condițiile pentru RT-PCR necesare reverstranscrierii ARN și amplificării fragmentelor de ADNc sunt diferite în funcție de regiunea genomică pentru care se face amplificarea și de secvența primerilor.

Pentru detecția fitoplasmelor, spre exemplificare *Candidatus Phytoplasma prunorum*, se folosește tehnica moleculară **nested-PCR**, care presupune amplificarea ADN-ului în două etape folosind primerii P1/P7 (Schneider și colab., 1995) și R16(X)F1/R16(X)R1 (Lee și colab., 1995).

c). Electroforeza în gel de agaroză

Produsii de amplificare obținuți sunt separați cu ajutorul electroforezei în gel de agaroză 1,5%, colorat cu bromura de etidiu sau RedSafe, utilizând o cuvă de electroforeză orizontală. În alveolele gelului se încarcă câte 10 μ l din produsul PCR,

amestecat în prealabil cu 1 μ l de colorant de încărcare (loading dye). În primul godeu (alveolă) se introduce un marker molecular de ADN, utilizat pentru estimarea dimensiunii fragmentelor amplificate. După migrarea electroforetică, produșii de amplificare sunt vizualizați sub lumină ultravioletă (UV), cu ajutorul unui sistem de imagistică specializat, prevăzut cu software care permite captarea și prelucrarea imaginii gelurilor de electroforeză (Fig. 13).



Figura 13. Electroforeza în gel de agaroză: încărcarea produșilor PCR și vizualizarea la monitor prin transiluminator (original)

Diagnosticul molecular al agenților patogeni necesită utilizarea unei game complexe de echipamente specializate (Fig. 14), destinate procesării probelor biologice, extracției ADN/ARN, amplificării secvențelor țintă și analizei produșilor de amplificare. Printre echipamentele esențiale se numără: DNA termocycler, termoblocuri, centrifugă cu răcire, sisteme pentru manipularea probelor în condiții sterile (hote cu flux laminar), instalații pentru prepararea apei ultrapure, echipament de electroforeză și documentare a gelurilor, precum și echipamente auxiliare (autoclav, nișă chimică, containere pentru azot lichid, pH-metre, distilator, bidistilator, seturi de pipete automate etc.).



Figura 14. Aspecte ale tehnicilor moleculare (RT-PCR) (original)

4.1.3. Metode biologice

Testarea biologică, prin utilizarea indicatorilor biologici, reprezentați de plante gazdă erbacee și/sau lemnoase, constituie un instrument complementar, dar necesar, în diagnosticul virusurilor la speciile din genul *Prunus*. În schemele de certificare a materialului de înmulțire se recomandă indexarea pe indicatori lemnoși, care deși durează mai mult decât pe indicatori erbacei, este mai sigură pentru detecția infecțiilor virotice. Conform metodologiilor moderne, testarea biologică trebuie asociată cu metode serologice și moleculare pentru a obține o diagnosticare completă, sensibilă, specifică și biologic confirmată (García și colab., 2024).

Plantele indicator sunt cultivate, de obicei, în spații protejate (sere), până când ating un stadiu de dezvoltare adecvat pentru altoirea cu muguri sau fragmente de scoarță prelevate de la ramurile ce urmează a fi testate. După altoire, acestea sunt monitorizate timp de 1 - 8 luni (Boyé și Desvignes, 1996; Desvignes, 1999; Gentit, 2006; IPPC, 2012) în vederea evidențierii eventualelor reacții simptomatice specifice infecțiilor virale.

La SCDP Bistrița se utilizează în principal indexarea pe indicatori biologici lemnoși, metodă aplicată de regulă în luna august, prin altoirea materialului de testat pe plante indicator specializate. Observarea și evaluarea reacțiilor de răspuns ale indicatorilor se realizează în perioada mai-iulie a anului următor, interval care permite exprimarea simptomelor caracteristice și evidențierea eventualelor infecții latente. Această abordare oferă posibilitatea detectării unor agenți patogeni virali care pot să nu manifeste simptome vizibile în planta sursă și constituie o etapă importantă de confirmare a statusului fitosanitar al materialului biologic destinat certificării.

Indicatorii biologici erbacei și lemnoși recomandați pentru testarea virusurilor/fitoplasmelor la specia prun sunt cei menționați în tabelul 3 (Jelkmann, 2004).

Succesul testării biologice este influențat de mai mulți factori: starea fitosanitară a plantelor indicator, condițiile de creștere, durata de contact dintre inocul și indicator, precum și sensibilitatea și vârsta plantelor. De exemplu, pentru virusurile specifice prunului, indicatorii lemnoși de *P. persica* 'GF305' (Fig. 15) și *P. tomentosa* rămân de referință. Deși metoda implică un timp îndelungat de observație și costuri ridicate, indexarea biologică rămâne o etapă indispensabilă în programele internaționale de certificare a materialului săditor, fiind utilizată în special pentru evaluarea și validarea materialului vegetal aflat în etapa de „Prebază-Candidat”, respectiv în faza premergătoare introducerii acestuia în schemele de multiplicare. Totodată, având în vedere posibilele limitări legate de specificitatea simptomelor, testarea biologică este recomandată ca instrument complementar analizelor serologice și moleculare în procesul de obținere a materialului de înmulțire nucleu.

Tabelul 3

Indicatori biologici erbacei și lemnoși recomandați pentru testarea virusurilor la specia prun (după Jelkmann, 2004)

Specie /Indicator	Nr. repetiții	Temperatura optimă (°C)	Durata testului	Virusuri/fitoplasme detectate
1	2	3	4	5
A. Indexări la seră				
a. indicatori erbacei				
<i>C. quinoa</i>	5	20	20 zile	PNRSV, ACLSV, genul <i>Nepovirus</i>
<i>C. sativus</i>	3	20	20 zile	PNRSV, PDV, ApMV
<i>N. benthamiana</i>	3	20	28 zile	PPV
b. indicatori lemnoși				
<i>P. persica</i> - puieți GF 305	5	20	8 săpt.	PNRSV, PDV, ACLSV, PPV, SLRSV, ACLSV, ApMV, APLPV, ToRSV, MLRSV, ESFY, EPLPV
<i>P. tomentosa</i> - hibridul IR473 x IR474	3	22	12 săpt.	PNRSV, PDV, ACLSV, ACLSV, ACLSV, ToRSV, PPV
<i>P. serrulata</i> - Shirofugen	5 mug.	22-26	4 săpt.	PNRSV, PDV
B. Indexări în câmp				
<i>Prunus serrulata</i> - Shirofugen - Kwanzan	5 mug. 3	- -	6 săpt.-1 an 2 ani	PNRSV, PDV green ring mottle
hibrid <i>Prunus</i> - Shiro plum	3	-	2 ani	APLPV
<i>P. domestica</i> -Ersinger, Prune d'Ente 707	3	-	2 ani	EPLPV, ApMV, ACLSV
<i>P. persica</i> - puieți GF 305	3	-	2 ani	ESFY



Figura 15. Oculație simplă cu doi muguri pe indicatorul *P. persica* 'GF305' (spații protejate) (original)

4.2. Tehnici de devirozare

Importanța devirozării derivă din faptul că anumite soiuri valoroase, deși afectate de unul sau mai multe virusuri, pot fi reabilitate, permițând astfel utilizarea lor în producerea materialului de înmulțire cu status indemn. Materialul suspect de infecție virală este supus analizelor serologice și/sau moleculare pentru confirmarea statusului fitoviral. Dacă testările indică prezența unui agent patogen viral și nu există o altă sursă liberă de virusuri aparținând aceluiași genotip, materialul vegetal trebuie supus unui proces de devirozare, realizat prin aplicarea unor tehnici specifice destinate eliminării agenților patogeni virali prezenți.

Devirozarea plantelor poate fi realizată prin metode *in vivo*, aplicate plantelor întregi sau unor părți ale plantei menținute în condiții controlate de vegetație, precum și prin metode *in vitro*, utilizând explante cultivate în condiții aseptice, ambele abordări având ca scop eliminarea virusurilor și obținerea de material sănătos. Tehnicile de devirozare *in vivo* sunt aplicate, de regulă, pe plante cultivate în ghivece și menținute în spații protejate, în timp ce devirozarea *in vitro* permite obținerea materialului vegetal liber de virusuri în condiții controlate de laborator.

Numeroase metode *in vitro* s-au dovedit eficiente în eliminarea virusurilor și fitoplasmelor, printre acestea numărându-se cultura de meristeme, chimioterapie, crioterapie (Hemmati și colab., 2023) și termoterapie (Laimer și Bertaccini, 2019). Aplicarea acestor tehnici permite obținerea de plante libere de virusuri și fitoplasme, care pot fi ulterior utilizate pentru producerea materialului de înmulțire și plantare certificat, cu status indemn.

4.2.1. Tehnici de devirozare *in vivo*

Manifestarea infecțiilor virale este influențată semnificativ de regimul termic. Astfel, expresia simptomelor este accentuată în perioada de debut a vegetației, primăvara, în timp ce temperaturile ridicate din timpul verilor caniculare determină o reducere a încărcăturii virale, fenomen care poate conduce la atenuarea sau chiar absența unor simptome caracteristice (Șekerli, 2024). Printre cele mai utilizate tehnici de devirozare *in vivo* se numără tratamentul termic (termoterapie) și tratamentul cu agenți antivirali (chimioterapie).

Termoterapia *in vivo*

Abordarea clasică pentru obținerea materialului vegetal liber de virusuri se bazează pe aplicarea termoterapiei *in vivo*, prin stabilirea parametrilor termici, care asigură menținerea viabilității plantei tratate, concomitent cu reducerea sau blocarea activității virale. Expunerea la temperaturi înalte, poate determina formarea de lăstari noi cu potențial ridicat de a fi lipsiți de agenții patogeni virali, și totodată declanșează, mecanismele de apărare ale plantei, care contribuie la limitarea și eliminarea agenților virali (Szabó și colab., 2024a).

Termoterapia vizează menținerea plantelor aflate în ghiveci într-o cameră de termoterapie la temperaturi de peste 36°C timp de cel puțin 2 săptămâni (Minoiu, 1973a; Wang și colab., 2018).

Printre primele încercări de aplicare a termoterapiei *in vivo* la speciile pomicole se numără cea realizată la piersic de Kunkel (1936), care a constatat în scufundarea ramurilor în apă la temperatura de 34 - 35°C timp de câteva zile, urmată de altoirea apexurilor pe portaltoi liberi de virusuri.

În cadrul genului *Prunus*, prunul este specia care poate tolera temperaturi ridicate pe termen lung (Dziedzic, 2008) sau temperaturi alternante ridicate între zi și noapte. Temperaturile ridicate de 38 - 46°C, menținute pe parcursul zilei, dar și în perioada iunie-august s-au dovedit a fi eficiente pentru inactivarea virusului plum pox la prun (Minoiu, 1982). De asemenea, aplicarea termoterapiei la temperatura de 37°C, pe o durată de 15 sau 22 de zile, a condus la eliminarea cu succes a virusului plum pox la *Prunus domestica*, eficiența tratamentului fiind dependentă de genotip (Polak și Hauptmanova, 2009).

Implementarea termoterapiei *in vivo*, precedată de etapa de condiționare termică, realizată prin creșterea progresivă a temperaturii de la 22°C la 35°C/37°C, urmată de menținerea explantelor la 35°C/37°C, a influențat semnificativ răspunsul regenerativ, astfel că îmbinarea tehnicilor *in vivo* cu cele *in vitro*, prin excizarea și cultivarea meristemelor, au dus la o rată ridicată de eliminare a virusului plum pox (Jakab-Ilyefalvi și Pamfil, 2011). Succesul eradicării virusurilor este dependent și de genotip (Polak și Hauptmanova, 2009).

Chimioterapie *in vivo*

Expunerea plantelor la diverși agenți chimici a fost considerată o tehnică capabilă să inhibe manifestarea virusurilor, prin reducerea sau chiar lipsa simptomelor specifice (Stoddard și Dimond, 1949). În cazul piersicului, tratarea lăstarilor prin îmbibarea timp de o oră în soluții de: sulfat de 8-hidroxichinolină, hidrochinonă, paranitrofenol, 8-hidroxichinolat de calciu, uree sau tiosulfat de sodiu, a determinat dezvoltarea unor lăstari la care nu s-au mai manifestat simptome caracteristice infecției cu virusul X (Stoddard, 1942).

Inhibarea virusului plum pox la prun prin chimioterapie *in vivo* a fost realizată cu succes prin utilizarea unor substanțe chimice eficiente, precum: tetraciclină 1%, benomil (Benlat), dodina (Melprex), Saprozan, alchil-aril sulfonat de sodiu. Pentru plantele aflate în ghivece s-a realizat udarea sau stropirea acestora cu soluțiile respective (Minoiu, 1982).

4.2.2. Tehnici de devirozare *in vitro*

Tehnicile de devirozare *in vitro* reprezintă un ansamblu de metode biotehnologice utilizate pentru obținerea materialului vegetal liber de virusuri, prin cultivarea și manipularea controlată a țesuturilor vegetale în condiții aseptice.

Etapela preliminară devirozării *in vitro* vizează selecția materialului vegetal infectat, sterilizarea acestuia și etapa de inițiere. Etapa de multiplicare vizează obținerea materialului vegetal în cantitate suficientă în vederea inițierii tehnicilor de devirozare. Ulterior implementării tehnicilor de devirozare, are loc multiplicarea, înrădăcinarea *in vitro* și în final aclimatizarea plantulelor.

Prima etapă constă în alegerea materialului vegetal de interes, respectiv a materialului vegetal pentru care există confirmarea infecției virale prin teste de laborator, efectuate în prealabil. Un alt aspect esențial vizează sterilizarea și dezinfectarea materialului vegetal prelevat anterior. În cadrul acestei etape, ramurile prelevate se fasonează în fragmente uninodale cu un mugure, urmate de dezinfectare și sterilizare în vederea înlăturării agenților dăunători de suprafață. Pașii etapei de dezinfectare și sterilizare se referă la aplicarea soluțiilor cu efect fungicid, precum hidroxidul de cupru; spălarea sub jet de apă și pe plita cu agitator magnetic cu detergent; imersarea în etanol; menținerea în soluție de hipoclorit de sodiu; clătirea repetată cu apă distilată sterilă.

Principalele etape și tehnici ale procesului de devirozare *in vitro* sunt descrise în figura 16. În practică, tehnicile cele mai utilizate pentru obținerea materialului vegetal liber de virusuri se bazează pe cultura țesuturilor meristemice sau a apexurilor, adesea combinată cu termoterapia *in vitro*. Această asociere permite prelevarea țesuturilor din lăstarii regenerați după tratamentul termic, sporind semnificativ rata de succes în eliminarea virusurilor. Alte tehnici de devirozare *in vitro* utilizate sunt: termoterapia, chimioterapie, crioterapie, electroterapie, dar și combinarea acestora, în vederea creșterii eficienței eliminării agenților virali.

a. Cultura de meristeme

Tehnica culturii de meristeme se bazează pe conceptul că zona apicală a lăstarilor prezintă o încărcătură virală extrem de redusă sau nulă, întrucât majoritatea virusurilor nu reușesc să colonizeze țesuturile meristemice. Această particularitate biologică permite uneori regenerarea de plante sănătoase din fragmente apicale, chiar și atunci când planta donatoare este infectată (Mochizuki și Ohki, 2014).

Izolarea meristemului urmată de regenerarea plantelor în condiții *in vitro* reprezintă o strategie eficientă pentru obținerea materialului vegetal sănătos, însă pentru speciile din genul *Prunus* aplicarea acestei metode este limitată. Dificultatea majoră constă în potențialul scăzut de regenerare al plantelor după excizarea țesuturilor meristemice de dimensiuni foarte reduse, ceea ce reduce considerabil rata de succes a procedurii (Laimer și Barba, 2011; Wang și colab., 2018).

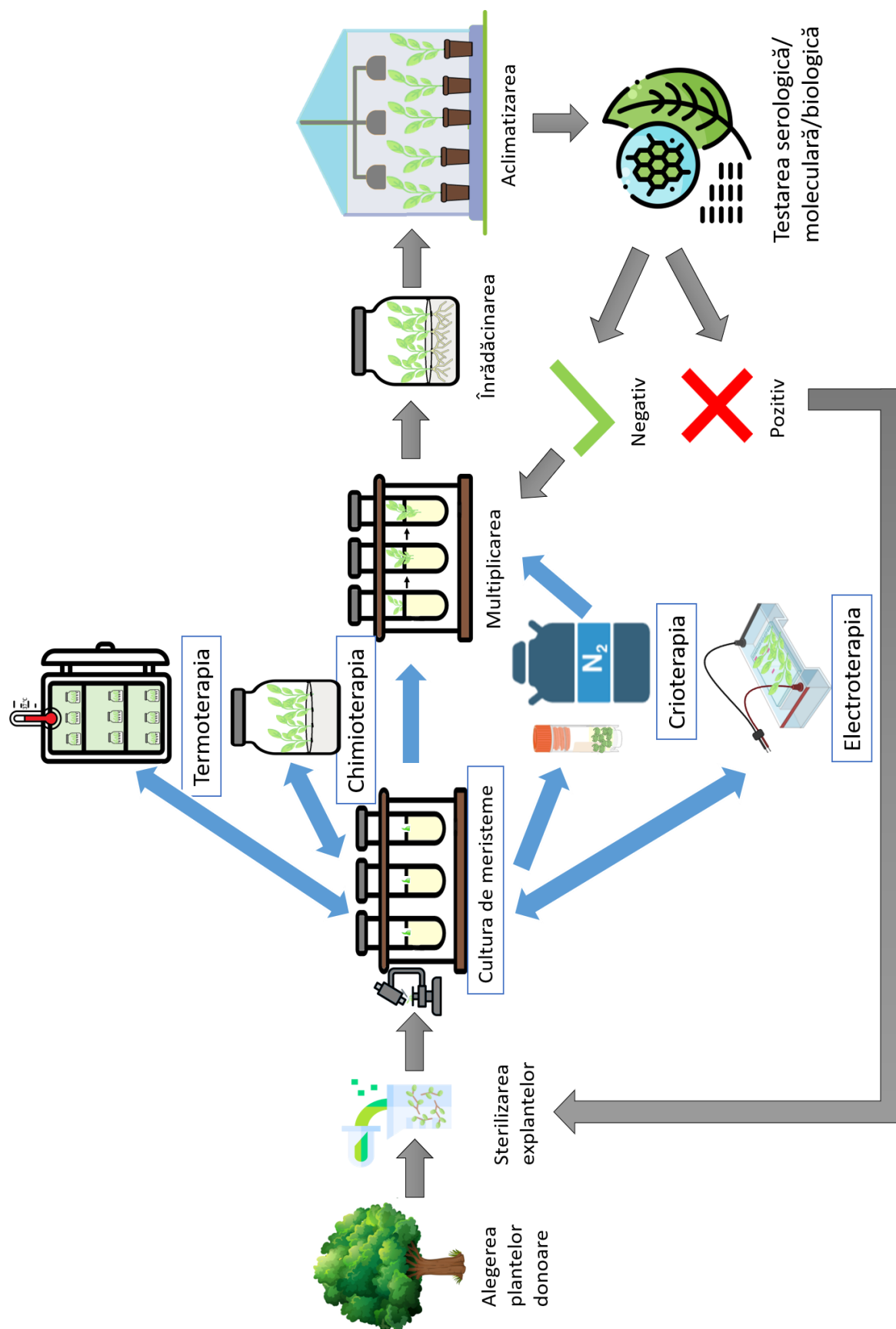


Figura 16. Principalele etape și tehnici ale devirozării *in vitro* a materialului vegetal infectat (original)

Având în vedere dimensiunile reduse ale meristemului, eficiența acestei tehnici este limitată, iar probabilitatea de reușită crește odată cu mărimea explantului prelevat, existând o relație directă între dimensiunea acestuia și rata de succes a regenerării. Cu toate acestea, pe măsură ce dimensiunea explantului crește, sporește și riscul includerii țesuturilor infectate în materialul regenerat, ceea ce reduce eficiența eliminării virusurilor. Astfel, succesul tehnicii depinde de găsirea unui echilibru optim între dimensiunea explantului, necesară pentru regenerare, și probabilitatea obținerii unui material vegetal devirozat.

b. Termoterapia *in vitro*

Termoterapia presupune creșterea temperaturii, de preferat creșterea graduală, până în jurul valorii de 36 - 38°C și menținerea explantelor *in vitro* la acest nivel termic pentru o perioadă de minim 21 de zile (Wang și colab., 2018).

Tratamentul termic favorizează alungirea lăstarilor, determinând localizarea virusurilor preponderent în regiunea bazală a apexului, în timp ce regiunea apicală poate fi liberă de virusuri. Cultura meristemelor/apexurilor și regenerarea plantelor după aplicarea termoterapiei *in vitro* permit reducerea timpului de expunere a explantelor la tratamentul termic, comparativ cu termoterapia *in vivo*, contribuind totodată la creșterea eficienței procesului de regenerare a plantelor (Koubouris și colab., 2007).

Eficiența tratamentului termic poate fi îmbunătățită prin ajustarea regimului termic aplicat culturilor, fie prin utilizarea unui ciclu cu temperaturi diurne ridicate (aproximativ 38°C) și temperaturi nocturne mai reduse (în jur de 28°C), fie prin aplicarea unei creșteri progresive a temperaturii încă din faza inițială a tratamentului (Wang și colab., 2018).

Pentru speciile din genul *Prunus*, cea mai frecvent utilizată metodă *in vitro* pentru eliminarea virusurilor este termoterapia în asociere cu cultura de apexuri (care include meristemul și un număr redus de primordii foliare). Speciile aparținând genului *Prunus* prezintă niveluri diferite de toleranță la temperaturi ridicate, astfel că eficacitatea procesului de devirozare este, de asemenea, variabilă. În consecință, atât temperatura aplicată, cât și durata tratamentului termic trebuie adaptate și optimizate în funcție de particularitățile fiecărui genotip (Szabó și colab., 2024a).

La specia prun, implementarea tehnicii de termoterapie la regimul termic de 38/36°C (ziua/noaptea), combinată cu cultura de meristeme, a determinat o rată de eradicare de 75% a virusului cherry virus A (CVA, *Capillovirus alphavii*), evidențiind eficiența acestei abordări (Szabó și colab., 2024b).

Studiile privind dimensiunea apexului excizat evidențiază o corelație pozitivă între mărimea acestuia și rata de supraviețuire și regenerare a lăstarilor, în timp ce succesul eradicării virusurilor prezintă o corelație negativă cu dimensiunea acestora (Pérez-Caselles și colab., 2025; Wang și colab., 2018).

Meristemele de dimensiuni foarte reduse (0,2–0,5 mm) sunt predispuse la necroză sau prezintă dificultăți în regenerare. Implementarea tehnicii de termoterapie a evidențiat o creștere accentuată a ratei de supraviețuire odată cu creșterea dimensiunii meristemelor la specia cais. Cele mai ridicate rate de supraviețuire, concomitent cu eficiență de peste 90% în eliminarea virusurilor apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV, *Trichovirus mali*), apple mosaic virus (ApMV, *Ilarvirus ApMV*) și tobacco ringspot virus (TRSV, *Nepovirus nicotianae*), au fost obținute utilizând meristeme de 1,0–2,0 mm (Khafri și colab., 2022). De asemenea, combinarea termoterapiei cu menținerea culturilor în condiții de întuneric s-au dovedit eficiente pentru eliminarea virusului plum pox (PPV, *Potyvirus plumipoxi*) la *P. armeniaca* (Pérez-Caselles și colab., 2025).

c. Chimioterapie *in vitro*

Chimioterapia reprezintă o tehnică de devirozare *in vitro* bazată pe adăugarea unor compuși cu activitate antivirală în mediul de cultură, care sunt preluați și metabolizați de către plantule, conducând la reducerea sau eliminarea încărcăturii virale. Dintre agenții utilizați în mod curent pentru devirozarea plantelor, ribavirina (Virazole) este cel mai frecvent utilizat, datorită spectrului său larg de acțiune. Totuși, eficiența ribavirinei variază în funcție de tipul virusului, ceea ce sugerează existența unor mecanisme de inhibiție distincte, mai degrabă decât un mod de acțiune universal (Hansen și Stace-Smith, 1989; Thanuja și colab., 2025).

Chimioterapia aplicată individual s-a dovedit adesea inefficientă sau cu o eficiență scăzută în eliminarea virusurilor, însă după implementarea în prealabil a termoterapiei, un număr considerabil de plante au devenit libere de virusuri (Panattoni și colab., 2013).

Eficiența eradicării virusurilor este influențată de concentrația agentului antiviral. La prun, antiviralul ribavirina în concentrații de până la 30 mg/L s-a dovedit inefficient pentru eliminarea virusurilor *Prunus* necrotic ringspot virus (PNRSV, *Ilarvirus PNRSV*) și Apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV), în timp ce concentrațiile de 40-50 mg/L au indus un efect fitotoxic pronunțat, inhibând dezvoltarea plantelor *in vitro* (Mazeikiene și colab., 2019). În cazul soiurilor de prun 'Blufree' și 'Hanita', tratamentul cu ribavirină s-a dovedit eficient în eliminarea PPV, chiar și la concentrația minimă testată (10 mg/L) (Polak și Hauptmanova, 2009).

Un alt agent chimioterapeutic utilizat în culturile *in vitro* este zidovudina (azidotimidina), care s-a dovedit mai eficientă decât ribavirina în eradicarea unor virusuri precum PPV, PDV și PNRSV la *P. persica*, fără manifestarea fitotoxicității (Pavelkova și colab., 2015).

d. Crioterapie

Tehnicile de crioconservare pot constitui o metodă eficientă pentru eradicarea virusurilor. Această tehnică presupune imersarea explantelor vegetale infectate din culturi *in vitro*, în azot lichid (-196°C) în vederea eliminării virusurilor. Țesuturile meristematice pot supraviețui temperaturilor foarte scăzute.

Crioterapia permite distrugerea celulelor infectate de virusuri, păstrând în același timp celulele sănătoase, ceea ce conduce la regenerarea plantelor libere de virusuri. Această metodă s-a dovedit eficientă pentru numeroase virusuri, inclusiv PPV, PNRSV sau ACLSV, și este adesea utilizată fie singură, fie în combinație cu termoterapia sau chimioterapia, pentru a crește rata de succes a obținerii de material vegetal liber de virusuri. Un avantaj major al crioterapiei este acela că, atunci când este aplicată corect, nu induce efecte fitotoxice semnificative, permițând regenerarea microplantelor cu păstrarea integrității genetice (Wang și colab., 2022).

Tehnica de crioconservare prin picurare-vitrificare a fost utilizată pentru eliminarea virusurilor ACLSV, ApMV, TRSV la cais, meristemele cu dimensiuni mai ridicate prezentând un potențial de supraviețuire moderat, în timp ce eficiența devirozării a variat între 60-80%, în funcție de virus (Khafri și colab., 2022). La prun, tehnica de crioterapie cu crioplăci de tip D-V (deshidratare-vitrificare), s-a dovedit eficientă în eradicarea PPV doar pentru un soi de prun din cele două supuse devirozării (Jevremović și colab., 2023).

e. Electroterapia

Electroterapia reprezintă o metodă alternativă de eradicare a virusurilor la plante, bazată pe expunerea explantelor vegetale la curenți electrici de intensitate și durată controlate.

În culturile *in vitro*, electroterapia poate fi aplicată pe meristeme sau lăstari, fiind adesea combinată cu alte metode de eliminare a virusurilor, cum ar fi chimioterapia sau termoterapia, pentru a spori eficiența tratamentului (Adil și colab., 2022).

La cais, electroterapia a fost utilizată pentru devirozarea *in vitro* a lăstarilor apicali sau axilari. Rata de supraviețuire a explantelor a variat în funcție de intensitatea curentului electric, fiind influențată de tipul virusurilor și de soi, cu rate de eliminare variind între 40% și 60% (Khafri și colab., 2024).

4.3. Tehnici de conservare *in vitro* a materialului de înmulțire

Metodele tradiționale de conservare *ex situ* în spații protejate pentru speciile cu înmulțire vegetativă, precum speciile pomicole, constituie o abordare relativ eficientă pentru prezervarea materialului de înmulțire din categoriile biologice superioare, în principal Prebază, însă aceste metode sunt asociate cu multiple provocări.

Menținerea materialului vegetal în spații extinse și special amenajate necesită asigurarea unor condiții de mediu riguros controlate care includ: sisteme de irigare, protecție fitosanitară și climatizare adecvată, menite să garanteze supraviețuirea și integritatea plantelor, dar și să reducă pierderile provocate de factori biotici și/sau abiotici.

Colecțiile pomologice pot fi, de asemenea, vulnerabile la contaminări de natură virală, bacteriană sau fungică, ceea ce poate compromite integritatea genetică a materialului conservat.

O altă limitare a acestor metode tradiționale constă în viabilitatea relativ redusă a materialului, care necesită reînnoire periodică prin înmulțire vegetativă sau altoire, proces ce implică atât un efort manual calificat, cât și costuri semnificative pentru întreținerea și monitorizarea continuă a colecțiilor genetice (Snaddon și colab., 2013).

Biotehnologiile vegetale prin tehnica culturii de țesuturi vegetale prezintă importante aplicații precum, propagarea rapidă și la scară largă, juvenalizarea, eliminarea virusurilor sau a altor agenți patogeni, selecția unor genotipuri în vederea ameliorării, conservarea etc. (El-Esawi, 2016; Clapa și Fira, 2018).

Conservarea diversității resurselor vegetale la nivel global a devenit o preocupare importantă ca urmare a schimbărilor climatice și a diverselor presiuni antropice (Sarasan, 2010). Având în vedere aceste aspecte, conservarea biodiversității se realizează prin două mari strategii: conservarea *in situ* și conservarea *ex situ*, cea din urmă presupunând menținerea speciilor vegetale în afara habitatelor lor naturale: sere, bănci de gene, bănci de germoplasmă (Lee, 2023) sau prin culturi *in vitro* (Stănică, 2004; Engelmann, 2011; 2012).

Conservarea *in vitro* a germoplasmei vegetale este parte integrată a strategiei generale de conservare *ex situ* și schimb de resurse genetice la nivel mondial, oferind posibilitatea menținerii unui număr mare și variat de culturi pe o suprafață redusă. Tehnicile de cultură *in vitro* pot fi utilizate pentru conservarea celulelor, a țesuturilor sau a organelor vegetale, contribuind astfel la menținerea fondului genetic dar și la prezervarea în condiții sterile a materialului vegetal (Kulak și colab., 2022; Oseni și colab., 2018).

Importanța practică a conservării *in vitro* este evidențiată și de utilizarea acesteia în sistemele de producere a materialului de înmulțire fructifer, unde constituie un instrument eficient pentru menținerea și multiplicarea materialului Prebază. Prin limitarea riscului de reinfecție cu agenți patogeni și prin asigurarea unor condiții strict controlate de păstrare, aceste tehnici contribuie la conservarea eficientă a surselor inițiale de material biologic cu status indemn.

Tehnicile *in vitro* sunt utilizate pentru conservarea germoplasmei vegetale pentru perioade distincte de timp: pe termen scurt prin culturile de țesuturi; pe termen mediu prin tehnica creșterii lente; pe termen lung prin crioconservare (Engelmann, 1997).

4.3.1. Conservarea pe termen scurt prin culturi de țesuturi

Conservarea pe termen scurt prin culturi de țesuturi reprezintă o metodă avansată de multiplicare și păstrare a materialului vegetal, utilizând tehnici de laborator pentru a menține viabilitatea acestuia într-un mediu controlat, pentru o perioadă limitată de timp, de maxim 60-90 de zile. Această metodă, specifică biotehnologiei moderne, este utilizată pentru a conserva diverse specii de plante, atât în scopuri comerciale, cât și

pentru protecția biodiversității (Hummer, 1999). Fragmente mici de țesuturi, cunoscute sub denumirea de explante, pot fi utilizate pentru a genera sute sau chiar mii de plante, într-un proces continuu, indiferent de sezon sau condiții meteorologice (Akin-Idowu și colab., 2009).

Tehnicile de microînmulțire sunt considerate un prim pas în vederea conservării germoplasmei (Lambardi și De Carlo, 2003). Conservarea pe termen scurt prin culturi de țesuturi presupune păstrarea materialului vegetal, pornind de la semințe, butași sau fragmente de plante, în condiții de laborator care permit menținerea viabilității acestora pentru o perioadă limitată de timp. Culturile *in vitro*, prin compoziția mediilor nutritive special formulate, permit creșterea și dezvoltarea într-un anumit ritm al plantelor (Engelmann, 1997; Anis și Ahmad, 2016).

Conservarea pe termen scurt este o practică frecvent utilizată în multe laboratoare, mai ales pentru a prelungi intervalele dintre subculturi în timpul procesului de multiplicare. La finalul perioadei de stocare, culturile sunt transferate pe mediu proaspăt și expuse temporar la condiții optime pentru a stimula regenerarea, înainte de inițierea unui nou ciclu de conservare (Engelmann, 2012; Cruz-Cruz și colab., 2013). Timpul optim pentru transferul explantelor pe medii nutritive proaspete variază în funcție de compoziția mediului de cultură dar și de genotip, cu perioade minime de 21-30 de zile, principalul aspect care trebuie avut în vedere fiind evitarea apariției fenomenului de senescență între subcultivări.

Pentru speciile propagate vegetativ, cum ar fi cele din genul *Prunus*, conservarea *in vitro* prin tehnici de micropropagare reprezintă un instrument important pentru prezervarea și menținerea resurselor genetice.

Principalele căi de regenerare a culturilor *in vitro* sunt organogeneza și embriogeneza somatică (Fig. 17).

Organogeneza *in vitro* reprezintă procesul morfogenic esențial în biotehnologia vegetală, constând în formarea de structuri organogene specifice, în principal lăstari sau rădăcini, din celule somatice cultivate în condiții aseptice. Acest proces poate avea loc fie în mod **direct** din țesuturi de tip meristematic - prin diferențierea organelor vegetative din explant, fie **indirect** - prin intermediul unui stadiu de calus, din care ulterior se diferențiază organe vegetative. Direcția dezvoltării organogenezei este influențată în mod determinant de balanța hormonală din mediul de cultură, în special de raportul auxină/citochinină, iar concentrațiile ridicate de citochinine favorizează inducerea lăstarilor, în timp ce predominanța auxinelor stimulează formarea rădăcinilor (Sang și colab., 2018).

Tehnica de **embriogeneza somatică** reprezintă procesul de dezvoltare al celulelor somatice din celule non-sexuale, printr-o succesiune de etape de dezvoltare similare celor întâlnite în embriogeneza *in vivo*, care conduce la formarea unor structuri morfologice asemănătoare embrionilor zigotici. Acest proces poate avea loc în mod **direct**, prin apariția embrionilor somatici din explant, fie **indirect**, prin intermediul

unui stadiu de calus embriogenic. Ulterior, acești embrioni somatici prezintă capacitatea de a se dezvolta în plante întregi în condiții optime (Méndez-Hernández și colab., 2019).

Principalele **tipuri de culturi de țesuturi**, în vederea conservării pe termen scurt la speciile pomicole, sunt: cultura de meristeme sau apexuri, cultura de organe sau fragmente nodale, cultura de calus și cultura de embrioni somatici sau zigotici.

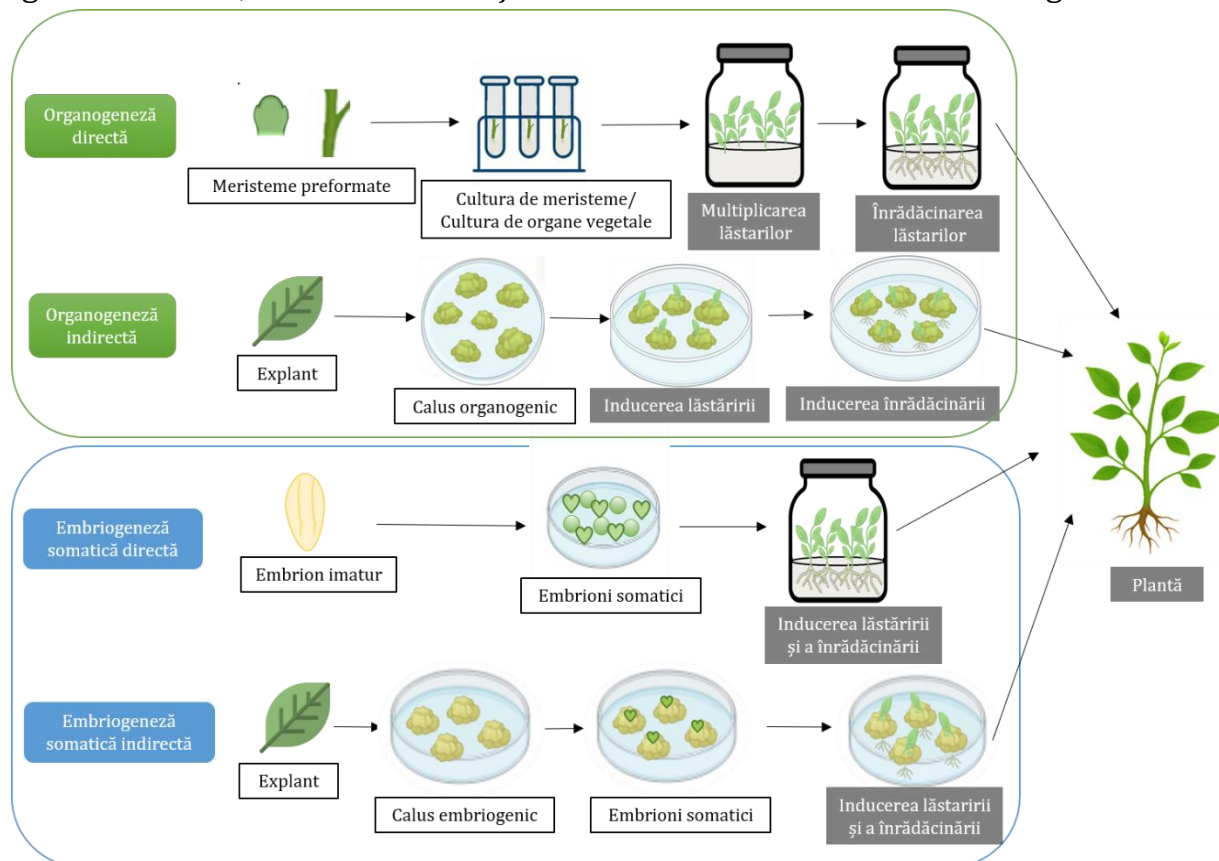


Figura 17. Principalele căi de regenerare *in vitro* a plantelor (original)

a. Cultura de meristeme sau apexuri

Meristemele reprezintă țesuturi formative, caracterizate printr-o activitate intensă de creștere activă prin diviziune celulară. Acestea se localizează, de regulă, în vârful tulpinilor, al rădăcinilor sau în regiunile nodale și prezintă capacitatea de a regenera plante. De-a lungul întregii vieți a plantei, aceste țesuturi își păstrează potențialul de proliferare, contribuind constant la formarea de noi celule. Dimensiunea meristemelor este de aproximativ 0,1 mm diametru și 0,25-0,30 mm lungime (Wang și Charles, 1991).

Cultura de meristeme este constituită din explantul care conține meristeme preexistente, preformate. Explantul conține, de obicei, doar domul meristematic sau domul meristematic însoțit de primele două primordii foliare, care este excizat, în condiții sterile, din mugurii apicali caulinari sau axilari (Nehra și Kartha, 1994).

Cultura de apexuri se bazează pe inocularea explantelor cu dimensiuni mai mari respectiv de 0,5 mm lungime. Această tehnică este cea mai frecvent utilizată pentru inițierea culturilor *in vitro* (Nehra și Kartha, 1994), deoarece dimensiunea mai mare a inoculului favorizează o rată mai ridicată de inițiere față de cultura de meristeme, iar

implicit, procesul de regenerare se desfășoară într-un ritm semnificativ mai rapid (Ngezahayo și Liu, 2014).

Conservarea prin culturi de meristeme sau apexuri presupune izolarea acestor structuri și cultivarea într-un mediu de cultură adecvat, în condiții *in vitro*. Prin această metodă, materialul vegetal poate fi menținut pe termen scurt *in vitro*, pentru a asigura o sursă constantă de material genetic pentru propagare.

b. Cultura de organe/noduri

Cultura de organe sau noduri constituie o metodă frecvent utilizată în microînmulțirea speciilor lemnoase. Aceasta implică izolarea și cultivarea în condiții *in vitro* a segmentelor nodale, a mugurilor axilari sau apicali, precum și a altor organe vegetale care conțin meristeme preformate, capabile să regenereze plante (Brennan, 2016). Acest tip de cultură asigură menținerea materialului vegetal în stare activă de proliferare, cu explante bine dezvoltate, reprezentând o sursă constantă de material genetic pentru propagare.

c. Cultura de calus

Cultura de calusul reprezintă una din metodele fundamentale ale tehnicilor de culturi *in vitro*, având un rol esențial în procesele de regenerare celulară și organogeneză. Calusul este un țesut nespecializat, format din celule meristemate, rezultat ca urmare a reacției fiziologice induse în explantele cultivate într-un mediu nutritiv specific. Acest tip de țesut se caracterizează printr-o proliferare rapidă a celulelor în stadiu primar, fără o organizare structurală clară. Inducerea calusului este determinată de o serie de factori precum tipul și concentrația reglatorilor de creștere, iar auxinele joacă un rol esențial în stimularea diviziunii celulare. Calusul poate fi utilizat ulterior pentru regenerarea organelor vegetale, constituind un pas intermediar, esențial în procesele de micropropagare sau în obținerea culturilor de embrioni somatici (Efferth, 2019).

Conservarea pe termen scurt prin cultura de calus are ca scop menținerea viabilității materialului vegetal și posibilitatea regenerării rapide a explantelor în condițiile favorabile.

d. Cultura de embrioni somatici

Cultura de embrioni somatici presupune inducerea formării embrionilor prin cultivarea explantelor somatice (fragmente de calus sau țesuturi vegetale) pe un mediu de cultură specific, suplimentat cu nutrienți și fitohormoni de creștere, în special auxine și citochinine. Embrionii somatici pot fi ulterior germinați pentru a produce plante întregi, care păstrează fidel caracteristicile genetice ale plantei de origine. Această tehnică are o importanță deosebită în programele de ameliorare genetică, facilitând selecția rapidă a genotipurilor cu trăsături dorite, precum rezistența la boli sau toleranța la condiții de stres (Guan și colab., 2016).

Conservarea pe termen scurt prin intermediul tehnicii de culturi de țesuturi reprezintă o abordare esențială în biotehnologia vegetală, horticultură și protejarea biodiversității. Această tehnică oferă posibilitatea păstrării materialului vegetal într-o stare viabilă pentru perioade de timp limitate, optimizând utilizarea resurselor vegetale și facilitând conservarea acestora. Deși tehnica implică anumite limitări, precum durata relativ scurtă a conservării sau necesitatea infrastructurii specializate, avantajele sale (eficiența, reproductibilitatea și contribuția la propagarea rapidă a speciilor valoroase) o transformă într-un instrument indispensabil pentru dezvoltarea durabilă a agriculturii și pentru protejarea speciilor/soiurilor periclitate sau a celor de interes. Principalele caracteristici ale conservării pe termen scurt prin culturi de țesuturi sunt: disponibilitatea ridicată a materialului vegetal, costuri reduse comparativ cu conservarea pe termen lung și minimizarea riscurilor de contaminare, astfel că tehnicile de culturi *in vitro* reprezintă o unealtă valoroasă în prezervarea materialului vegetal.

4.3.2. Conservarea pe termen mediu prin tehnica creșterii lente

Tehnica creșterii lente, cunoscută și sub denumirea de creștere minimală (engl. *slow growth*), este una din cele mai frecvent utilizate metode pentru conservarea pe termen mediu a germoplasmei vegetale (1-2 ani). Scopul acestei tehnici este menținerea explantelor într-o stare nediferențiată, fără proliferare activă, astfel încât plantele să rămână viabile pentru perioade extinse, fără a atinge maturitatea completă (Chauhan și colab., 2019).

Creșterea lentă se aplică culturilor vegetale la care rata de creștere poate fi redusă prin modificarea condițiilor de mediu și a concentrațiilor regulatorilor de creștere, menținând astfel materialul vegetal într-o stare viabilă, cu un ritm diminuat de dezvoltare. Această tehnică presupune păstrarea materialului vegetal în culturi de țesuturi *in vitro*, în condiții aseptice, unde rata de creștere a plantelor este redusă semnificativ, la minim, fără a le compromite viabilitatea sau capacitatea de regenerare (Engelmann, 1997, 2012; Lambardi și Ozudogru, 2013). Astfel, plantele pot fi conservate pentru perioade medii de timp, păstrându-și proprietățile genetice și fiind capabile să regenereze și să fie multiplicare ulterior.

Conservarea pe termen mediu este o metodă esențială în biotehnologia vegetală, cu aplicabilitate în domeniul agricol, având rolul de a asigura păstrarea diversității genetice și menținerii materialului biologic vegetal valoros în condiții controlate de laborator (Lambardi și Ozudogru, 2013; Benelli și colab., 2022; Yadav și colab., 2024). Această tehnică permite menținerea viabilității plantelor pentru o perioadă mai lungă de timp decât tehnicile de conservare prin culturi de țesuturi, fără însă a necesita condițiile extreme ale conservării pe termen lung, tehnică denumită crioconservare (Engelmann, 1997, 2012). Astfel, tehnica permite păstrarea plantelor pentru o perioadă de la câteva luni până la câțiva ani, fără ca acestea să ajungă la maturitate completă.

Creșterea lentă este implementată prin manipularea factorilor fizici de mediu (temperatura, lumina, umiditatea și concentrația oxigenului) sau prin modificarea

compoziției mediului de cultură (concentrația sărurilor, a nutrienților, compușilor osmotici sau a fitohormonilor). De asemenea, genotipul joacă un rol esențial în succesul conservării germoplasmei vegetale (Cha-um și Kirdmanee, 2007; Engelmann, 2011; Arbeloa și colab., 2015; Benelli și colab., 2022) (Fig. 18). Depozitarea, în prealabil, în camere climatice a culturilor *in vitro*, pentru perioade de câteva zile în condiții standard: $22 \pm 0,5^\circ\text{C}$, umiditate 60%, fotoperioada de 8/16 ore, sunt cerințe esențiale pentru reușita conservării *in vitro* (Engelmann, 1997; Benelli și colab., 2022).

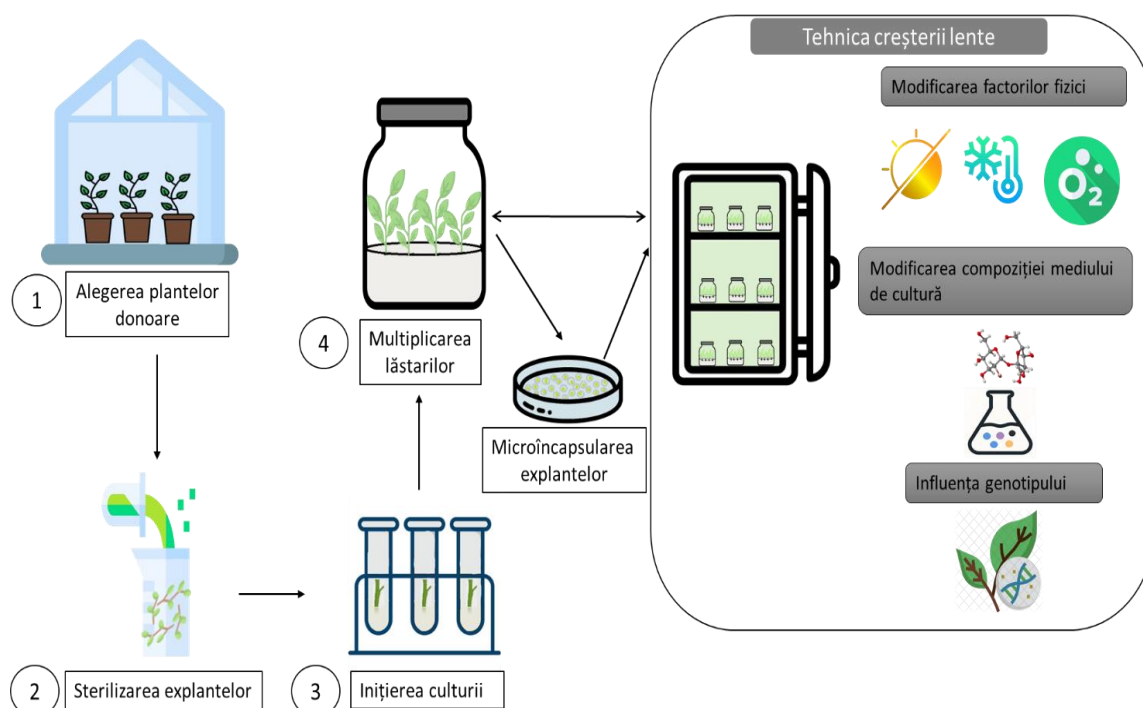


Figura 18. Etapele tehnicii de creștere lentă pentru conservarea pe termen mediu
(original)

a. Factorii fizici

Principalii factori fizici care influențează tehnica creșterii lente sunt: temperatura, condițiile de lumină, prezența și concentrația gazelor și tipul sistemului de cultură. Pentru speciile din regiunea temperată, cea mai frecvent utilizată metodă de conservare prin tehnica creșterii lente constă în reducerea temperaturii, adesea în combinație cu scăderea intensității luminii sau chiar absența acesteia. Temperatura și lumina sunt factori esențiali în dezvoltarea plantelor, iar limitarea acestora poate încetini semnificativ ritmul de creștere și dezvoltare al plantulelor. Temperaturile scăzute încetinesc procesele metabolice, în timp ce lumina redusă sau lipsa totală a acesteia inhibă dezvoltarea (Lambardi și De Carlo, 2003; Benelli și colab., 2022). Un alt factor limitativ al creșterii poate fi concentrația compușilor gazoși și tipul recipientului de cultură (Benelli și colab., 2022).

Temperatura. În mod uzual, încetinirea dezvoltării explantului se realizează prin scăderea temperaturii ambientale din camera de creștere sub valoarea optimă pentru creșterea activă a culturilor (Lambardi și De Carlo, 2003). Incubarea la o temperatură

mai scăzută duce la diminuarea activităților metabolice, precum ar fi respirația, pierderea de apă, ofilirea și producția de etilenă (Rajasekharan și Sahijram, 2015).

Temperatura de incubare pentru încetinirea ritmului de dezvoltare a culturilor variază în funcție de specie și prezintă valori între 0 și 8°C pentru speciile din regiunea temperată, iar pentru speciile din regiunea tropicală, între 10 și 15°C (Benelli și colab., 2022).

Conservarea la temperatura de 4-5°C este cea mai comună abordare pentru tehnica creșterii lente (Lambardi și Ozudogru, 2013). Există, însă, și excepții, prin păstrarea culturilor la temperaturi sub punctul de îngheț (-3°C) pentru conservarea culturilor de lăstari la genul *Prunus* (Marino și colab., 1985).

Lumina/întuneric. Condițiile diferite de lumină pot influența conservarea la temperaturi scăzute, în scopul încetinerii metabolismului. Deși menținerea culturilor în întuneric total este metoda cea mai frecventă, diverse combinații ale fotoperioadei și intensității luminoase au fost utilizate ocazional pentru a obține condiții mai bune de conservare. Fotoperioada cel mai des utilizată pentru conservarea culturilor este 8 ore lumină și 16 ore întuneric (Lambardi și De Carlo, 2003). Depozitarea culturilor în întuneric total este utilizată în principal în laboratoarele comerciale de culturi de țesuturi, datorită costurilor reduse necesare pentru echiparea unei camere de stocare (Benelli și colab., 2022). Această metodă este utilizată cu precădere pentru speciile lemnoase, contribuind la reducerea activității metabolice celulare. Cu toate acestea, expunerea prelungită la întuneric poate determina alungirea exagerată a lăstarilor și apariția etiolării, necesitând ulterior efectuarea mai multor subculturi în condiții obișnuite pentru restabilirea creșterii normale (Lambardi și Ozudogru, 2013).

Pentru genul *Prunus* menținerea culturilor sub iluminare continuă în condiții de creștere lentă a dus la deteriorarea rapidă a culturilor în decurs de doar câteva luni (Arbeloa și colab., 2017). În schimb conservarea în condiții de întuneric s-a dovedit a fi mai eficientă decât fotoperioada de 16 ore lumină pentru stocarea cu succes la -3°C, timp de până la 10 luni, iar condițiile de fotoperioadă s-au dovedit esențiale pentru stocarea cu succes la 4°C și 8°C pentru perioade de până la 6 luni (Marino și colab., 1985). Genotipurile de *Prunus cerasifera* și *P. domestica* menținute la întuneric, la temperatura de 4°C, au înregistrat rate de supraviețuire între 25-100% după 12 luni, în funcție de compoziția mediului de conservare (Gianní și Sottile, 2015).

Prezența și concentrația gazelor. Pentru conservarea pe termen mediu, încetinirea creșterii poate fi realizată prin limitarea accesului la oxigen a țesuturilor vegetale. O metodă simplă constă în acoperirea explanturilor cu parafină, ulei mineral sau mediu lichid. De asemenea, reducerea presiunii atmosferice sau menținerea culturilor într-o atmosferă controlată pot contribui la diminuarea intensității respirației (Engelmann, 2012). Reducerea concentrației de oxigen de la 21% la 0,25% s-a dovedit a avea efect detrimental în privința conservării după 12 luni pentru genotipurile de *Prunus* (Dorion și colab., 1994).

O altă metodă de limitare a respirației aerobe este acumularea de gaze. În cazul conservării prin tehnica creșterii lente pentru portaltoiul 'Gisela 5' de *Prunus* s-au observat niveluri ridicate de CO₂ și etilenă la concentrații ridicate de zaharoză (60 g/L), la începutul ciclului de conservare, nivelurile acestor gaze scăzând rapid pe durata conservării (Ozudogru și colab., 2017).

Sisteme de cultură. Conservarea *in vitro* a speciilor vegetale implică utilizarea unor sisteme de cultură bine definite, care să asigure condițiile optime pentru încetinirea metabolismului și regenerarea ulterioară în condiții optime. Alegerea sistemului adecvat influențează direct eficiența conservării și succesul obținerii plantelor viabile. În funcție de tipul de explant utilizat și de obiectivele experimentale, se pot utiliza culturi în sistem static sau lichid, fiecare având caracteristici, avantaje și limitări specifice.

Tipul de recipient de cultură este un alt factor care trebuie avut în vedere în cazul conservării explantelor. Mai multe tipuri de recipiente de cultură sunt disponibile, de forme, materiale, volume și grade diferite de permeabilitate la gaze. Vasul de cultură poate influența, de asemenea, durata și succesul conservării. Cele mai des utilizate tipuri de recipiente sunt eprubetele (Keller și colab., 2006), recipiente sau borcane cu volume diferite (Gianní și Sottile, 2015; Turdiyev și colab., 2020) sau pungile de tip 'Star Pac™' (Ozudogru și colab., 2017; Turdiyev și colab., 2020).

Culturile în sistem static constituie una dintre cele mai utilizate metode în conservarea speciilor pomicole. Acest sistem se bazează pe utilizarea mediilor nutritive solidificate cu agenți gelifianti care oferă un suport fizic stabil pentru explant. Una dintre caracteristicile fundamentale ale sistemului static este contactul parțial al explantului cu mediul nutritiv, ceea ce asigură un aport constant de substanțe nutritive, dar în același timp limitează accesul la oxigen, mai ales în regiunea imersată a explantului. Sistemul static permite manipularea facilă a explantelor dar și controlul mai fidel al contaminărilor.

Sistemele de cultură în mediu lichid constituie o alternativă eficientă față de metodele statice convenționale. În aceste sisteme, explantul este complet sau parțial imersat într-un mediu nutritiv lichid, asigurându-se contact direct și constant cu nutrienții, ceea ce facilitează o absorbție rapidă.

Sistemele lichide pot fi clasificate în două mari categorii, sisteme de cultură statice și sisteme cu imersie temporară, pentru perioade limitate de timp. În cadrul sistemelor de cultură lichide în sistem static se realizează conservarea explantelor de tipul microîncapsulatelor artificiale (semințe sintetice) pentru perioade extinse de timp. Explantele sunt încapsulate într-o matrice artificială de alginat de calciu în vederea menținerii viabilității acestora pe perioade extinse de timp.

Semințele sintetice au devenit un instrument valoros atât în domeniul agricol, cât și în cel al conservării, în mare parte datorită progreselor realizate în cultura *in vitro* și tehnologiilor de încapsulare. Pentru conservarea pe termen scurt și mediu, încapsularea propagulelor vegetative sau a embrionilor somatici, a fost implementată cu succes

pentru specii erbacee (Sujatha și Kumari, 2008), plante ornamentale (Gull și colab., 2019) și specii lemnoase de cultură (Perveen și Anis, 2014).

La genul *Prunus* s-a realizat cu succes conservarea microîncapsulatelor la 4°C în condiții de întuneric (Vlașin și colab., 2025a).

b. Compoziția mediului de cultură

Compoziția mediului de cultură, în special concentrația macro-/micro-elementelor, zaharurilor/agenților osmotici și fitohormonii, joacă un rol important în succesul conservării prin tehnica creșterii lente. Reducerea concentrației nutrienților și ajustarea nivelului fitohormonilor influențează semnificativ supraviețuirea și capacitatea de multiplicare *in vitro* a diferitelor specii horticole, furnizând repere esențiale pentru optimizarea protocolului de conservare.

Macro-/micro-elemente. Un mod eficient de a induce creșterea lentă a culturilor *in vitro* constă în reducerea concentrației de macro-/micro-elemente din mediul de cultură. În condiții standard, compoziția mediilor de cultură favorizează creșterea și dezvoltarea culturilor *in vitro*, însă scăderea concentrației macro-/micro-elementelor determină încetinirea metabolismul plantelor, astfel că ritmul de creștere este inhibat, permițând conservarea pe termen mediu (Chauhan și colab., 2019).

O metodă eficientă pentru conservarea prin tehnica creșterii lente este înjumătățirea concentrației de săruri pentru culturile *in vitro* din genul *Prunus* (Arbeloa și colab., 2017).

Zaharuri/compuși osmotici. Un alt element esențial în compoziția mediului de conservare îl reprezintă conținutul și concentrația zaharurilor (Lambardi și Ozudogru, 2013). Principalii compuși din clasa zaharurilor, suplimentați în culturile pentru genul *Prunus* sunt: zaharoză, frecvent în concentrații de 10-20 mg/L (Ozudogru și colab., 2017) sau 45-60 g/L (Gianní și Sottile, 2015) sau amestecuri de manitol și zaharoză (Marino și colab., 2010). Alți compuși adăugați în mediu de cultură pentru genul *Prunus* sunt sorbitolul și manitolul (Vlașin și colab., 2026).

Fitoregulatori sau inhibitori de creștere. Suplimentarea mediilor de cultură cu fitoregulatori sau inhibitori ai creșterii, dar și momentul subcultivării sunt aspecte esențiale pentru conservarea pe termen mediu. Fitoregulatorii de creștere, precum citochininele și auxinele, sunt utilizați pentru controlul ritmului de dezvoltare. În tehnica creșterii lente, concentrațiile hormonilor sunt ajustate pentru a reduce proliferarea celulară și a inhiba creșterea rapidă. Plantele pot fi păstrate temporar într-o stare de „hibernare” la temperaturi scăzute, folosindu-se atât medii care conțin citochinine, cât și medii lipsite de hormoni, ambele fiind preferate pentru conservarea culturilor *in vitro* (Lambardi și Ozudogru, 2013; Benelli și colab., 2022).

c. Genotipul

Genotipul joacă un rol esențial în conservarea germoplasmei vegetale prin tehnica creșterii lente. Răspunsul diferitelor tipuri de culturi *in vitro* poate varia considerabil între genotipurile aceleiași specii (Lambardi și Ozudogru, 2013).

Pentru inițierea ciclului de conservare la temperaturi scăzute, prin tehnica creșterii lente, este esențială utilizarea unor culturi de lăstari de înaltă calitate. De asemenea, culturile trebuie să fie lipsite de simptome de stres *in vitro*, precum hiperhidricitatea, necroza apicală sau brunificarea lăstarilor. Este important ca plantele să fie testate pentru prezența virusurilor și bacteriilor, deoarece șocurile termice pot activa bacteriile latente, provocând contaminări severe în timpul conservării sau în momentul recultivării în condiții normale (Lambardi și Ozudogru, 2013). În aceleași condiții, *Prunus domestica* a prezentat rate de supraviețuire cu valori între 75% și 100% după 12 luni de conservare la 4°C în întuneric, iar *Prunus cerasifera* a prezentat rate de supraviețuire mai reduse, cuprinse între 25% și 50% (Gianní și Sottile, 2015).

Principalele avantaje ale acestor tehnici sunt durata conservării, păstrarea diversității genetice, prin conservarea unor specii rare și a materialului genetic valoros și de interes, având un rol important în protejarea biodiversității, costuri reduse comparativ cu crioconservarea și propagare rapidă și eficientă. Principalul dezavantaj îl reprezintă necesitatea unui mediu controlat al factorilor de mediu (temperatură, umiditate, lumină), ceea ce poate implica costuri de operare și implicit necesitatea echipamentelor specializate (Benelli și colab., 2022).

Tehnica creșterii lente pentru conservarea pe termen mediu constituie o abordare eficientă în biotehnologie și agricultură, permițând păstrarea materialului vegetal într-un mediu controlat pentru perioade extinse de timp fără necesitatea subcultivării. Această metodă este importantă în protejarea resurselor genetice, conservarea materialului de înmulțire nucleu, a speciilor amenințate și propagarea plantelor de interes comercial, deși necesită echipamente specializate și implică costuri operaționale. Tehnica creșterii lente se dovedește a fi un instrument practic și valoros în gestionarea și protejarea patrimoniului vegetal la nivel global.

4.3.3. Conservarea pe termen lung prin crioconservare

Conservarea pe termen lung a resurselor genetice vegetale reprezintă o provocare majoră, în special în contextul schimbărilor climatice, al degradării habitatelor naturale și al riscurilor de extincție a unor specii. Printre cele mai moderne și eficiente tehnici de conservare pe termen lung se numără crioconservarea, tehnică ce presupune menținerea materialului biologic la temperaturi extrem de scăzute (Cruz-Cruz și colab., 2013). Această tehnică a fost implementată pentru conservarea pe termen lung a diverselor tipuri de explante, precum: semințe, țesuturi, fragmente de plante, celulele sau alte resurse biologice vegetale, devenind un instrument de referință în biotehnologie, dar și în protecția biodiversității (Engelmann, 2004; Reed, 2008).

Crioconservarea reprezintă o tehnică avansată de păstrare a materialului biologic, care constă în expunerea acestuia la temperaturi extrem de scăzute, de obicei între minus 196°C (temperatura azotului lichid) și minus 80°C. În aceste condiții, activitatea metabolică a celulelor este practic oprită, iar procesul de deteriorare este încetinit considerabil. Astfel, materialul biologic poate fi menținut în stare viabilă pentru perioade extinse de timp, de până la zeci sau chiar sute de ani, fără riscul pierderii stabilității genetice sau a funcționalității sale (Engelmann și Dussert, 2012; Yadav și colab., 2024).

Principiul de bază al crioconservării constă în reducerea drastică a temperaturii și, implicit, suspendarea activității metabolice a celulelor, prevenind astfel apariția proceselor de degradare. Integritatea celulară este menținută pe durata conservării, cu condiția ca procesul de înghețare să se desfășoare într-un mod controlat, pentru a preveni formarea cristalelor de gheață intracelulare, care pot compromite structurile celulare (Agrawal și colab., 2024).

Procesul de crioconservare implică mai multe etape esențiale care trebuie realizate succesiv pentru a asigura succesul tehnicii, și anume: pre-tratarea explantelor *in vitro*, deshidratarea explantelor, înghețarea propriu-zisă și stocarea, dezghețarea și regenerarea explantelor (Fig. 19).

a. Pre-tratarea materialului biologic

Premergător procesului propriu-zis de criogenare, materialul biologic necesită o etapă prealabilă de pregătire în vederea crioconservării, denumită pre-tratare, cu scopul asigurării unei adaptări treptate a explantelor înainte de expunerea la temperaturi scăzute. Aceste pre-tratamente constau în cultivarea explantelor excizate în soluții specifice și/sau aplicarea unui regim termic la temperaturi reduse față de condițiile standard pentru o perioadă determinată de timp.

Aplicarea pre-tratamentelor înainte de crioconservare constă în cultivarea explantelor pe medii nutritive suplimentate cu: agenți osmotici, acid salicilic, regulatori de creștere și/sau antioxidanți, care favorizează inducerea unei stări fiziologice favorabile deshidratării și conservării eficiente a speciilor vegetale (Wang și colab., 2021). Se consideră că pre-tratarea explantelor în soluții ce conțin agenți osmotici contribuie la reducerea conținutului de apă la nivel celular și creșterea concentrației endogene de zaharuri, procese care favorizează protejarea membranelor de deshidratare, un aspect esențial în protocoalele de conservare (Towill, 2002; Sakai și Engelmann, 2007). Printre cei mai frecvent utilizați agenți crioprotectori se numără zaharoza pură (Bradaï și colab., 2023), DMSO (Linerós și colab., 2018), amestecuri de zaharoză și glicerină (Barraco și colab., 2012), DMSO și prolină (Linerós și colab., 2018).

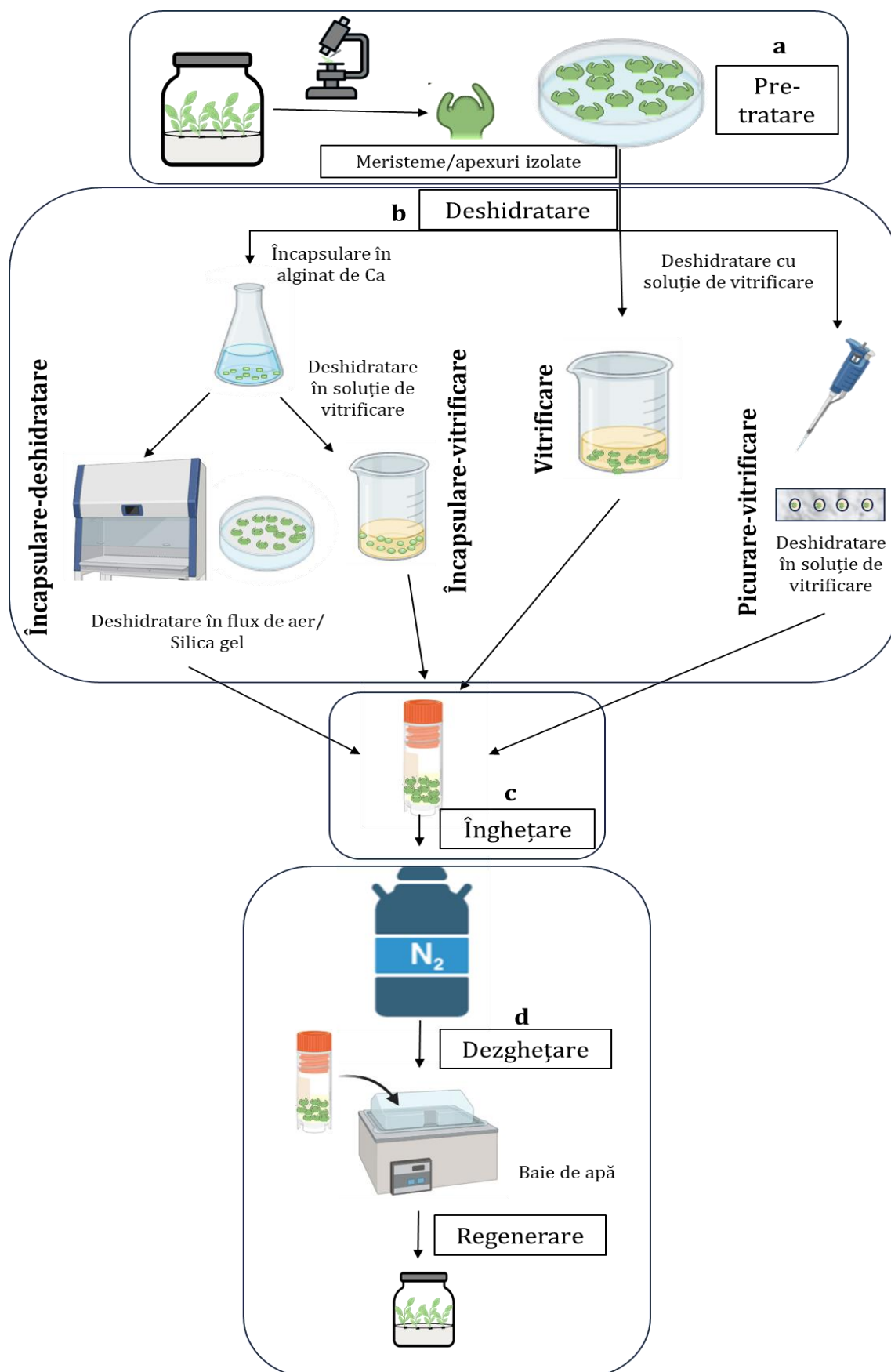


Figura 19. Etapele procesului de crioconservare în vederea conservării pe termen lung (original)

Expunerea culturilor *in vitro*, în prealabil crioconservării, la temperaturi reduse (4 - 8°C), crește adaptabilitatea explantelor la temperaturi extrem de scăzute. Mai ales pentru speciile lemnoase, aplicarea unui regim termic are în vedere reducerea activității metabolice a explantelor și reprezintă un aspect care trebuie avut în vedere pentru succesul regenerării explantelor după crioconservare (Popova și colab., 2023). Pre-tratamentele variază în funcție de tipul și durata expunerii, astfel că unele studii cu explante de *Prunus* supuse tratamentelor cu diverse concentrații de zaharoză și glicerină timp de câteva minute la 4°C în întuneric au prezentat rate crescute de supraviețuire sau regenerare după înghețare (Barraco și colab., 2012).

b. Deshidratarea și înghețarea

Deshidratarea materialului vegetal reprezintă o etapă importantă în procesul de crioconservare, deoarece trebuie să asigure eliminarea controlată a apei din explante în vederea prevenirii formării cristalelor de gheață în timpul congelării, fără a compromite viabilitatea și capacitatea de regenerare a acestora.

Materialul vegetal este expus la temperaturi extrem de scăzute, în azot lichid la temperatura de minus 196°C, în vederea stopării metabolismului celular și implicit, implementarea procesului de crioconservare.

Tehnicile de deshidratare și înghețare (criogenare) a materialului vegetal în vederea crioconservării sunt clasificate în două mari categorii: clasice - congelarea treptată și moderne - înghețarea rapidă a explantelor.

Tehnici clasice. În cadrul tehnicilor clasice, procesul de crioconservare este realizat în doi pași: faza de răcire lentă până la temperatura de preîngheț și faza de imersare rapidă în azot lichid. Pe parcursul răcirii graduale, atât celulele cât și mediul extracelular trec inițial printr-o fază de suprarăcire, urmată de inițierea formării cristalelor de gheață în mediul exterior (Engelmann, 2004). Membrana celulară funcționează precum o barieră, împiedicând pătrunderea cristalelor de gheață în interiorul celulei și menținându-le într-o stare de suprarăcire, dar neînghețate. Gradul de deshidratare celulară depinde de înghețarea intracelulară, fiind influențat de viteza de răcire și de temperatura atinsă în faza de preînghețare (Ozudogru și Lambardi, 2016).

Faza de răcire lentă este realizată prin scăderea treptată a temperaturii cu 0,5 - 2°C pe minut până la temperatura critică de congelare a explantelor (de obicei în jur de -40°C) și continuă cu imersarea rapidă în azot lichid (-196°C). Aceste metode sunt adesea complexe și costisitoare, necesitând echipamente specializate, cum ar fi congelatoarele programabile (Engelmann, 2004; Matsumoto, 2017). În această fază, celulele pierd treptat apă, ceea ce duce la deshidratare. Înghețarea trebuie să fie un proces lent și controlat pentru a preveni daunele provocate de formarea cristalelor mari de gheață care pot perfora membranele celulare (Matsumoto, 2017; Benelli, 2021). Din cauza complexității lor, tehnicile clasice sunt tot mai rar folosite, în timp ce tehnicile moderne reprezintă abordări perfecționate prin facilitarea procesului de deshidratare.

Tehnici moderne. În cazul tehnicilor moderne de crioconservare, etapa de înghețare se efectuează adesea într-un singur pas, prin răcire rapidă, respectiv prin directă imersare a explantelor în azot lichid. În funcție de protocolul utilizat, explantele individuale sau microîncapsulate pot fi plasate în criotuburi în prezența sau absența soluțiilor de vitrificare, fiind apoi imersate direct în azot lichid. Soluțiile de vitrificare previn formarea cristalelor de gheață intracelulare, eliminând riscurile asociate (Sakai și Engelmann, 2007).

Supraviețuirea explantelor în urma crioconservării depinde în principal de etapa de deshidratare și nu de etapa de răcire, cum se întâmplă în metodele clasice (Engelmann, 2004). Se pot identifica multiple proceduri bazate pe deshidratare/vitrificare: (1) încapsulare-deshidratare; (2) încapsulare-vitrificare; (3) vitrificare; (4) picurare-vitrificare.

(1). Încapsulare-Deshidratare. Tehnica de încapsulare-deshidratare se bazează pe tehnologia de producere a semințelor artificiale sau a microîncapsulatelor. Într-o primă etapă, explantele sunt încapsulate într-o matrice de alginat de calciu, și în mod curent, dar nu obligatoriu, microîncapsulatele sunt pre-cultivate în mediu lichid îmbogățit cu zaharuri pentru o perioadă de câteva zile.

Procesul de deshidratare poate fi realizat fie prin intermediul fluxului de aer laminar al hotei (Soliman, 2013), fie într-un recipient cu silica gel (Engelmann, 2009), până la un conținut de apă de aproximativ 20%, iar după deshidratare, probele sunt răcite rapid prin imersare în azot lichid.

Această abordare asigură rate de supraviețuire ridicate, iar explantele crioconservate prezintă de obicei o reactivare rapidă și directă, fără formarea de calus. Această tehnică a fost aplicată cu succes la apexurile de *Prunus avium*, explantele și microîncapsulatele fiind precultivate și ulterior supuse deshidratării cu silica gel. Procentul de regenerare/reactivare pe mediu de cultură cu fitohormoni a prezentat valori de până la 76% (Shatnawi și colab., 2007).

(2). Încapsulare-Vitrificare. Tehnica de încapsulare-vitrificare reprezintă o metodă complexă ce îmbină principiile încapsulării cu cele ale vitrificării, permițând procesarea simultană a unui număr mare de explante.

În cadrul acestei tehnici, explantele sunt imobilizate într-o matrice de alginat de calciu și ulterior sunt supuse tratamentului cu soluții de vitrificare. Această tehnică necesită un timp semnificativ mai lung de implementare, avantajul principal constând în dimensiunea redusă a microîncapsulatelor, care facilitează manipularea materialului biologic. Această tehnică combină eficiența vitrificării cu ușurința manevrabilității microîncapsulatelor, oferind o alternativă modernă și eficientă pentru crioconservarea materialului vegetal (Sakai și Engelmann, 2007).

Tehnica de vitrificare presupune utilizarea unor soluții crioprotectoare, precum sunt soluțiile de vitrificare (PVS engl. plant vitrification solution), pe bază de glicerol, iar

soluțiile cel mai frecvent folosite sunt: PVS2 (Sakai și colab., 1990) și PVS3 (Nishizawa și colab., 1993). Aceste soluții prezintă o compoziție standard, soluția PVS2 conține: 30% glicerol, 15% etilen glicol, 15% dimetilsulfoxid (DMSO) într-un mediu de cultură bazal (fără fitoregulatori de creștere) și zaharoză, iar soluția PVS3 conține: 40% glicerol și 40% zaharoză într-un mediu bazal.

Cel mai frecvent, explantele microîncapsulate de *Prunus domestica* au fost expuse soluției PVS2 la 0°C (De Carlo și colab., 2000). Această tehnică a fost recent optimizată pentru *P. cerasifera* (Vujović și colab., 2015) și *P. domestica* (Vujović și colab., 2015, 2021, 2023), prin utilizarea unor plăci de criogenare din aluminiu care asigură un control precis al deshidratării și reduc efectele toxice sau stresul osmotic asociat soluțiilor PVS, datorită volumului redus al soluției. Explantele fiind plasate în spații individuale pe plăci de aluminiu și încapsulate în sfere de alginat de calciu, contactul cu soluția de vitrificare este mai fidel.

(3). Vitrificare. Vitrificarea reprezintă un proces fizic prin care o soluție crioprotectoare concentrată este supusă unei răcirii rapide la temperaturi extrem de scăzute, solidificându-se într-o stare amorfă, fără formarea cristalelor de gheață. Acest proces, dependent de o anumită viteză de răcire, constituie o metodă eficientă de prevenire a înghețului (Fahy și colab., 1984; Sakai și Engelmann, 2007).

Implementarea vitrificării implică utilizarea agenților crioprotectori și a unor sisteme de răcire controlată, care determină creșterea vâscozității la nivel celular, inhibând astfel formarea cristalelor de gheață (Benson, 2008). Eficiența acestei tehnici depinde în mare măsură de toleranța explantelor la soluția de vitrificare, în ceea ce privește durata și temperatura tratamentului.

Cele mai frecvent utilizate soluții crioprotectoare sunt: PVS2 (Sakai și colab., 1990) și PVS3 (Nishizawa și colab., 1993). Această tehnică a fost implementată cu succes pentru apexurile de *Prunus* supuse deshidratării la 0°C prin expunerea la soluția de vitrificare PVS2 (Ružić și colab., 2014).

(4). Picurare-Vitrificare. Tehnica de crioconservare prin picurare-vitrificare este tehnica derivată din tehnica de picurare-înghețare implementată pentru prima oară de Kartha și colaboratorii (1982). Această metodă combină vitrificarea cu crioconservarea rapidă, prin plasarea explantelor într-un volum redus (5–10 µl) de soluție de vitrificare, sub formă de picături, pe benzi subțiri de aluminiu. În cadrul acestei proceduri, explantele sunt expuse vitrificării prin tratare cu soluții de vitrificare - cel mai frecvent PVS2 sau PVS3. Ulterior, aceste benzi de aluminiu sunt scufundate direct în azot lichid. Unul din principalele avantaje ale acestei tehnici constă în volumul foarte redus de agent crioprotector ce înconjoară explantele, ceea ce permite o răcire mult mai rapidă și eficientă a explantelor (Sakai și Engelmann, 2007).

Tehnica picurare-vitrificare a fost implementată pentru *Prunus cerasifera*, explantele fiind deshidratate cu soluții crioprotectoare PVS2 sau PVS3, iar după

imersarea în azot lichid regenerarea lăstarilor a fost, în general, redusă (5–20%) (Vujović și colab., 2011).

c. Stocarea la temperaturi scăzute

După imersarea propriu-zisă în azot lichid, explantele sunt depozitate la temperaturi extrem de scăzute, fie prin păstrare în azot lichid (-196°C), fie în ultracongelatoare (-80°C). La aceste temperaturi scăzute, activitatea biologică și chimică este practic stopată, ceea ce permite păstrarea pe termen lung a materialului genetic, pe perioade extinse de timp, de ordinul anilor.

d. Dezghețarea și regenerarea

Procesul de dezghețare sau încălzire este unul critic, deoarece atât înghețarea rapidă, cât și dezghețarea controlată pot provoca daune semnificative la nivel celular. Materialul conservat trebuie transferat treptat în condiții standard de temperatură și umiditate pentru a asigura rate ridicate de supraviețuire și de regenerare.

În cadrul tehnicilor clasice, procesul de reîncălzire trebuie să se realizeze cât mai rapid pentru a evita recristalizarea – fenomen prin care gheața topită se recongelează sub formă de cristale mari care pot provoca distrugerii celulare (Towill, 2002; Ozudogru și Lambardi, 2016).

În cazul tehnicilor moderne, respectiv prin tehnica încapsulării, explantele microîncapsulate pot fi îndepărtate din criotuburi și plasate temporar în cutii Petri. Alternativ, criotuburile pot fi introduse într-o baie de apă la temperaturi de peste 25°C timp de câteva minute.

În cazul vitrificării, criotuburile sunt scufundate într-o baie de apă la temperatura de aproximativ $38 - 40^{\circ}\text{C}$ timp câteva minute, după care conținutul este transferat într-o soluție concentrată de zaharuri în vederea stimulării regenerării (Matsumoto, 2017). Ultima etapă a tehnicii de crioconservare este transferarea direct pe mediul de reactivare, în vederea regenerării explantelor.

Crioconservarea constituie metoda de referință pentru conservarea pe termen lung, oferind soluții inovative pentru protejarea biodiversității și menținerea materialului biologic valoros, inclusiv a celui aparținând categoriei biologice Prebază.

Dezvoltarea continuă și optimizarea tehnicilor de crioconservare deschid noi perspective pentru conservarea pe termen lung a genotipurilor valoroase și pentru susținerea programelor de producere a materialului de înmulțire cu status indemn.

5. Monitorizarea și controlul fitosanitar în producerea materialului de înmulțire cu status indemn la prun

Protecția fitosanitară reprezintă o componentă esențială a sistemului de producere a materialului de înmulțire și plantare la prun, având ca obiectiv prevenirea introducerii, răspândirii și menținerii agenților patogeni și a dăunătorilor care pot compromite calitatea biologică, genetică și fitosanitară a acestuia. Menținerea unui nivel ridicat de sănătate fitosanitară a materialului de înmulțire constituie premisa obținerii materialului de plantare certificat și a înființării unor plantații productive și durabile.

Dintre agenții patogeni care afectează prunul, virusurile prezintă o importanță deosebită datorită modului lor de transmitere și dificultății controlului. Spre deosebire de bacterii și ciuperci, virusurile nu pot fi eliminate prin tratamente aplicate în câmp și se transmit cu ușurință prin înmulțire vegetativă sau, uneori, prin vectori biologici, semințe și/sau polen. Din acest motiv, controlul virozelor se bazează în principal pe măsuri preventive, evitarea contaminării inițiale a materialului biologic fiind esențială. În același timp, protecția plantațiilor necesită o abordare integrată, care combină măsuri profilactice cu intervenții curative și ameliorative acolo unde este posibil.

Obținerea materialului de înmulțire din categoriile biologice superioare (PREBAZĂ și BAZĂ), cu status indemn, reprezintă o condiție fundamentală pentru producerea de material de plantare *Certificat*. Calitatea fitosanitară a acestui material influențează direct dezvoltarea ulterioară a plantațiilor, productivitatea, longevitatea și capacitatea acestora de a valorifica potențialul genetic al soiurilor cultivate.

Prezența virusurilor, bacteriilor, ciupercilor sau a unor dăunători în plantațiile-mamă și în verigile sistemului de multiplicare poate compromite întregul proces de producere a materialului de înmulțire și plantare. Consecințele se reflectă într-o dezvoltare slabă a pomilor încă din primele faze de creștere, determinând pierderi economice semnificative prin diminuarea producției, deprecierea calității fructelor și reducerea duratei de exploatare a plantațiilor. În acest context, monitorizarea și controlul fitosanitar în procesul de obținere a materialului de înmulțire la prun reprezintă elemente esențiale pentru prevenirea răspândirii bolilor și dăunătorilor. Doar prin aplicarea riguroasă a măsurilor profilactice, testarea sistematică a plantațiilor-mamă și eliminarea surselor de infecție se poate asigura menținerea statusului indemn și producerea unui material de plantare sănătos, capabil să susțină dezvoltarea unor plantații performante și durabile.

Procesul de monitorizare are ca scop depistarea timpurie a organismelor dăunătoare pentru a preveni introducerea și răspândirea acestora în materialul de înmulțire folosit la producerea materialului săditor. Acesta presupune testarea sistematică a loturilor de material de înmulțire (PREBAZĂ și BAZĂ – plante-nucleu și plantații-mamă, *Certificat* - pepiniere) prin:

- inspecții vizuale periodice în biodepozitare (material PREBAZĂ), plantațiile-mamă producătoare de ramuri altoi și portaltoi (material BAZĂ/CERTIFICAT) și

în pepiniere (material *Certificat*), pentru identificarea eventualelor simptome produse de agenți patogeni specifici speciei;

- diagnostic de laborator, utilizând metode serologice (DAS-ELISA) și/sau moleculare (PCR, IC-/RT-PCR, nested-PCR), biologice (indexarea pe portaltoi sensibili), cu scopul de a depista infecțiile latente sau mixte;
- monitorizarea vectorilor (afide, cicade, nematozi) și a altor dăunători care pot transmite patogeni sau produce răni de intrare pentru aceștia, și care joacă un rol esențial în transmiterea agenților patogeni.

Controlul agenților patogeni în cazul prunului se realizează printr-un set de măsuri integrate, dintre care cele mai importante sunt:

- menținerea materialului de înmulțire (PREBAZĂ și, dacă este posibil și BAZĂ) în spații protejate de vectori (biodepozitare);
- amplasarea pepinierelor în zone izolate de livezi comerciale de sâmburoase, pentru a reduce riscul contaminării;
- aplicarea unor măsuri de igienă strictă (dezinfectarea uneltelor de altoire, tăiere);
- folosirea de portaltoi și soiuri rezistente sau cu grad ridicat de toleranță la boli și dăunători;
- tratamente fitosanitare, recomandabil la acoperire, cu produse autorizate;
- monitorizarea populațiilor de dăunători prin capcane și observații de teren;
- utilizarea unor metode integrate de protecție (prădători naturali, produse biologice).

Monitorizarea riguroasă și controlul eficient al agenților patogeni permit menținerea unui material de înmulțire care să asigure producerea unui material săditor conform legislației în domeniu. Astfel, în Anexa 1 - Ordinul MADR nr. 784/2016, cu modificările și completările ulterioare, la specia prun se prevede inspecția vizuală și, în caz de îndoieli, prin eșantionare și testare la următoarele organisme dăunătoare reglementate de non-carantină (ORNC):

- Bacterii: *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum*;
- Ciuperci și oomicete: *Phytophthora cactorum*, *Verticillium dahliae*;
- Insecte și acarieni: *Pseudaaulacaspis pentagona*, *Quadraspidotus perniciosus*;
- Nematozi: *Meloidogyne areniana*, *M. incognita*, *M. javanica*, *Pratylenus penetrans*, *P. vulnus*.

Conform Anexei 2 a aceluiași act normativ, la specia prun se prevede inspecția vizuală și, în anumite cazuri, prin eșantionare și testare următoarele organisme dăunătoare reglementate de non-carantină (ORNC):

- Virusuri: *Potyvirus plumpoxi*, *Ilarvirus PDV*, *Ilarvirus PNRSV*, *Ilarvirus ApMV*, *Trichovirus mali*, *Nepovirus cerasiferae*, *Nepovirus lycopersici*.
- Fitoplasme: *Candidatus Phytoplasma prunorum*.
- Bacterii: *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*;

În continuare sunt prezentați principalii agenți patogeni și dăunători asociați speciei *Prunus domestica* L., cu relevanță în producerea și menținerea materialului de

înmulțire cu status indemn. Aceștia aparțin următoarelor categorii: virusuri, fitoplasme, bacterii, ciuperci, insecte și nematozi.

5.1. Virusuri

Plantele pot fi afectate de virusuri specifice regnului vegetal, care provoacă boli cunoscute sub denumirea de viroze. Speciile pomicele sâmburoase, inclusiv prunul (*Prunus domestica* L.), sunt gazde pentru numeroase virusuri capabile să inducă modificări metabolice și fiziologice, manifestate uneori prin simptome vizibile, iar alteori prin infecții latente, fără expresie externă evidentă.

Virusurile care infectează speciile din genul *Prunus* pot determina simptome diverse la nivelul frunzelor, fructelor, lăstarilor și al altor organe ale plantei. Consecințele acestor infecții se reflectă în reducerea producției, deprecierea calității fructelor, diminuarea vigorii pomilor și, în situații grave, declinul prematur sau chiar moartea acestora. Severitatea simptomelor și a pagubelor produse depinde de virusul implicat, de gradul de infecție, de sensibilitatea soiului și de condițiile de mediu.

Dintre toate categoriile de agenți patogeni care pot afecta materialul de înmulțire și sănătatea plantațiilor de prun, virusurile reprezintă una dintre cele mai importante și dificil de gestionat. Spre deosebire de bolile produse de bacterii sau ciuperci, pentru care există în anumite situații măsuri curative eficiente, infecțiile virale nu pot fi eliminate din pomii infectați în condiții de câmp. În plus, numeroase virusuri pot evolua latent, pot prezenta o mare variabilitate genetică și se pot răspândi rapid prin materialul de înmulțire și/sau prin diferiți vectori biologici. Din aceste motive, prevenția constituie principalul mijloc de combatere a virozelor, iar utilizarea materialului săditor sănătos este esențială pentru menținerea productivității și longevității plantațiilor.

Impactul economic al virozelor este variabil și depinde de amploarea infecției și de eficiența măsurilor de prevenire și control. În formele ușoare, pierderile pot fi limitate, însă în cazul infecțiilor extinse acestea pot conduce la diminuări semnificative ale producției și la deprecierea valorii comerciale a fructelor, afectând rentabilitatea exploatațiilor pomicele.

Managementul virozelor la prun se bazează pe măsuri profilactice, dintre care cele mai importante sunt utilizarea materialului săditor Certificat, cu status indemn față de organismele reglementate, cultivarea soiurilor cu toleranță sau rezistență genetică, monitorizarea și controlul vectorilor de transmitere, precum și aplicarea unor tehnologii de cultură corespunzătoare. Implementarea consecventă a acestor măsuri contribuie la limitarea răspândirii infecțiilor și la reducerea impactului economic al bolilor virale.

Principalele virusuri care afectează specia prun și care sunt prevăzute în legislația fitosanitară pentru monitorizare în cadrul programelor de producere și certificare a materialului săditor cu status indemn sunt prezentate în cele ce urmează, cu accent asupra importanței lor economice, simptomatologiei, plantelor-gazdă și metodelor de prevenire și control.

5.1.1. *Potyvirus plumpoxi*

Noua denumire a virusului Plum pox (PPV) este *Potyvirus plumpoxi*, ca urmare a trecerii la denumirea binomială a speciilor virale, aprobată de *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV, 2023a).

PPV este agentul etiologic al bolii cunoscute sub denumirea de Sharka sau vărsatul prunului și reprezintă cel mai important virus al speciilor pomicele sămburoase la nivel mondial. Boala a fost observată pentru prima dată în Bulgaria în anul 1917, iar agentul patogen a fost descris ulterior de Atanasoff în anul 1932. Ca urmare a impactului economic major și a răspândirii extinse, PPV a fost inclus printre cele mai importante zece virusuri studiate la nivel mondial (Scholthof și colab., 2011).

Virusul infectează numeroase specii din genul *Prunus*, având ca principală gazdă prunul, și este răspândit în majoritatea regiunilor pomicele ale lumii (EPPO, 2025b). Situația fitosanitară diferă însă considerabil de la o țară la alta. În state precum Estonia, Finlanda, Suedia și Statele Unite ale Americii, virusul a fost eradicat prin aplicarea consecventă a măsurilor de carantină, monitorizarea sistematică a plantațiilor, eliminarea plantelor infectate și implementarea unor programe de compensare a fermierilor afectați. În schimb, în țări precum Liban și Noua Zeelandă, PPV nu a fost semnalat până în prezent (EPPO, 2025b). Aceste exemple evidențiază faptul că limitarea sau chiar eradicarea bolii este posibilă atunci când se intervine la timp și sunt aplicate riguros măsuri integrate de prevenire și control, bazate pe utilizarea materialului săditor sănătos, restricționarea circulației materialului infectat și supravegherea fitosanitară continuă a plantațiilor.

Plante gazdă

Virusul Plum pox (PPV) infectează un spectru larg de specii aparținând genului *Prunus*, printre care prunul (*Prunus domestica*), caisul (*P. armeniaca*), piersicul (*P. persica*) și corcodușul (*P. cerasifera*), iar mai rar cireșul (*P. avium*) și vișinul (*P. cerasus*) (Pop, 2009). De asemenea, anumite specii spontane și ornamentale, precum *P. spinosa* și *P. insititia*, pot constitui rezervoare naturale ale virusului și surse de inocul pentru plantațiile comerciale (Barba și colab., 2011).

Impact economic

În zonele endemice, precum România, PPV poate determina pierderi majore, mergând până la compromiterea totală a recoltei la soiurile sensibile (Minoiu, 1997). Infecțiile cu PPV determină reducerea producției și a calității fructelor prin diminuarea conținutului de zaharuri, deprecierea însușirilor organoleptice și scurtarea duratei de exploatare economică a plantațiilor. Importanța economică a bolii este amplificată de rolul major al prunului în producția de fructe proaspete și produse procesate, precum tuica și magiunul. Potrivit estimărilor realizate de Cambra și colab. (2024), pierderile economice generate de Sharka în perioada 1995–2023 au fost de aproximativ 2,4

miliarde euro, iar de la apariția bolii până în prezent acestea sunt evaluate la peste 13 miliarde euro la nivel mondial.

Simptomatologie

Manifestarea simptomelor variază în funcție de specie, soi, condițiile de mediu și tulpina virală implicată. Simptomele pot apărea pe frunze, fructe și, uneori, pe sămburi.

+ Simptome pe frunze

Primele simptome apar, de regulă, primăvara, pe frunzele tinere, sub formă de pete clorotice, inele, benzi sau marmorări verde-deschis care alternează cu țesutul sănătos (Fig. 20) (Nemeth, 1986; Pop, 2009; Barba și colab., 2011). La unele soiuri sensibile pot apărea deformări ale limbului foliar, ondulări marginale și reducerea dimensiunii frunzelor. Simptomele sunt mai evidente în pepinieră decât în livadă și se observă cu precădere în lunile mai-iunie (Minoiu, 1997). Temperaturile ridicate pot masca temporar expresia simptomelor.



Figura 20. Simptome tipice de PPV pe frunze la specia prun (original)

+ Simptome pe fructe

Virusul plum pox determină o diminuare severă a valorii comerciale a speciilor pomicele sămburoase, și în special al prunelor, prin afectarea calității acestora, manifestată prin deformări, leziuni necrotice și cădere prematură, ceea ce le face necorespunzătoare pentru consumul proaspăt și pentru utilizarea în industria de procesare. Simptomele variază în funcție de specie și soi, exprimându-se prin pete inelare clorotice sau verzi, dungi și zone decolorate pe epiderma fructelor (Nemeth, 1986; Minoiu, 1997; Pop, 2009; Barba și colab., 2011). Pe măsură ce fructele se

marează, zonele afectate devin adâncite și pot prezenta necrozări superficiale, scurgeri de gume. Pulpa fructelor infectate are consistență redusă, gust fad, dezechilibru între glucide și aciditate, determinând deprecierea calității comerciale. La soiurile sensibile, se observă deformări, depresiuni în pulpă și decolorări caracteristice care compromit calitatea fructelor și le fac adesea improprii consumului (Fig. 21). În infecțiile severe, se poate produce căderea prematură a fructelor, ceea ce reduce drastic producția soiurilor sensibile (Minoiu, 1997; Zagrai I. și colab., 2022).



Figura 21. Simptome tipice de PPV pe fructe la diferite soiuri de prun (original)

Simptome pe sâmburi

În anumite cazuri, pe tegumentul sâmburelui apar desene caracteristice sub formă de inele, linii sau puncte brun-deschise. Aceste simptome, deși specifice, nu sunt universal prezente și depind de sensibilitatea soiului.

Variabilitatea tulpinilor virale

PPV prezintă o diversitate genetică ridicată. Până în prezent au fost descrise zece tulpini: D, M, Rec, C, EA, W, T, CR, CV și An (Garcia și colab., 2025). Dintre acestea, tulpinile D (Dideron sau clorotică), M (Marcus sau necrotică) și Rec (recombinată) sunt cele mai răspândite la nivel mondial, în timp ce celelalte au distribuții geografice limitate (Palmisano și colab., 2025). Variabilitatea genetică influențează agresivitatea virusului, gama de plante gazdă și eficiența transmiterii.

Metode de detecție

PPV poate fi detectat în frunze, muguri și fructe prin metode serologice, precum DAS-ELISA, și prin tehnici moleculare de tip IC/RT-PCR. Diagnosticul poate fi completat prin indexare biologică pe plante indicator erbacee (*Chenopodium foetidum*, *Nicotiana benthamiana*) și lemnoase (*Prunus tomentosa*, *P. persica* cv. GF305, *P. marianna* cv. GF8.1) (Barba și colab., 2011).

Conform legislației în vigoare, materialul de înmulțire din categoriile biologice superioare este inspectat vizual de două ori pe an și testat pentru confirmarea absenței virusului. Materialul Prebază-Candidat este verificat suplimentar prin indexare pe indicatorul lemnos sensibil *P. persica* GF305, urmată de testare serologică.

Mod de transmitere

Transmiterea naturală a PPV se realizează prin intermediul afidelor, în mod nepersistent (Labonne și colab., 1995; Cambra și Vidal, 2017). Răspândirea virusului este influențată în principal de prezența și abundența speciilor eficiente de afide vectori, mai degrabă decât de diversitatea totală a populațiilor de afide (Vidal și colab., 2020). Dintre vectorii cei mai importanți ai PPV se remarcă *Myzus persicae*, *Aphis spiraecola*, *Hyalopterus pruni*, *Brachycaudus helichrysi*, *B. cardui* și *B. persicae* (Cambra și Vidal, 2017; Gildow și colab., 2004). Transmiterea este rapidă, afidele putând infecta alte plante în câteva secunde de la contactul cu o sursă infectată, dar pierzând capacitatea de inoculare după un timp scurt.

Răspândirea virusului Plum pox urmează un ciclu continuu, dependent atât de plantele gazdă și vectorii biologici, cât și de activitățile umane asociate producerii și circulației materialului de înmulțire (Fig. 22). Afidele vectori preiau virusul de la pomii infectați și îl transmit rapid pomilor sănătoși în timpul hrănirii. După inoculare, virusul se răspândește sistemic în întreaga plantă prin țesuturile conductoare, determinând apariția simptomelor caracteristice la nivelul frunzelor și, în funcție de specie și soi, al fructelor.

Mugurii infectați reprezintă sursa principală de răspândire a virusului prin altoire și înmulțire vegetativă în pepinieră, ceea ce conduce la obținerea de material săditor deja infectat. Astfel că transmiterea prin altoire constituie principalul mecanism de răspândire pe distanțe mari (Barba și colab., 2011; Garcia și colab., 2025). O altă particularitate cu importanță epidemiologică o reprezintă prezența pomilor infectați, dar fără manifestări simptomatice vizibile. Acești pomi, deși aparent sănătoși, pot constitui surse de inocul și pot contribui la răspândirea virusului în cadrul plantației.

PPV nu este considerat un virus cu transmitere verticală, prin sămânță sau polen. Numeroase studii au demonstrat că, deși particule virale pot fi detectate în anumite structuri ale semințelor provenite de la plante infectate, virusul nu se transmite la

descendenți (Glasa și colab., 1999; Pasquini și Barba, 2006). Aceste rezultate evidențiază rolul dominant al transmiterii vegetative și vectoriale în epidemiologia bolii Sharka.

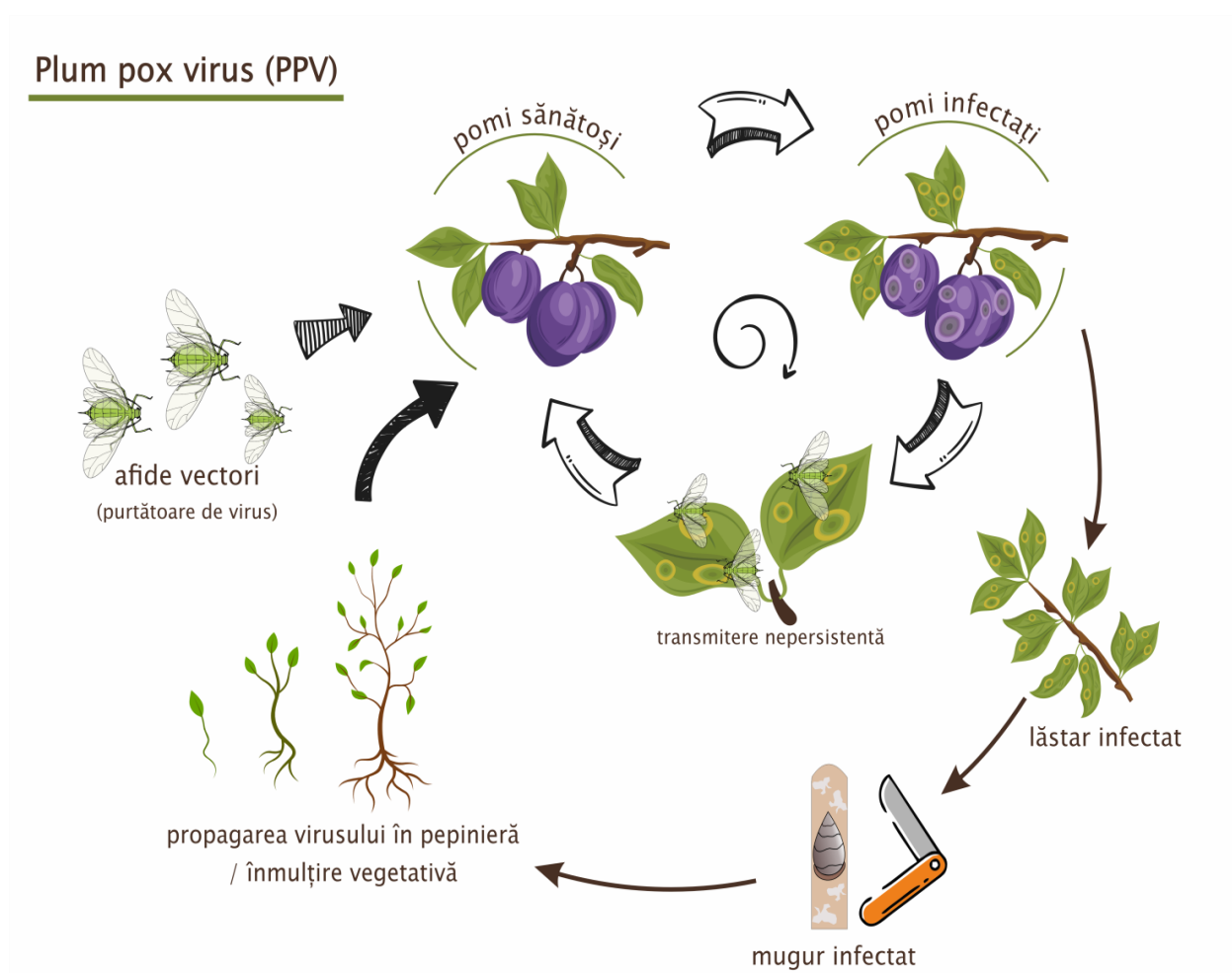


Figura 22. Ciclu de răspândire a virusului plum pox în natură

Chiar dacă transmiterea virusului plum pox prin intervenția umană nu poate fi exclusă, operațiunile de formare și întreținere a coroanelor prin lucrări de tăiere a materialului vegetal nu reprezintă o cale importantă de răspândire a virusului în plantațiile de *Prunus* (Rimbaud și colab., 2015). Din punct de vedere epidemiologic, transmiterea mecanică prin intermediul uneltelor de tăiere are o importanță redusă comparativ cu utilizarea materialului săditor infectat și cu transmiterea prin afide, principala cale naturală de diseminare a virusului. Cu toate acestea, respectarea măsurilor de igienă și dezinfectarea periodică a uneltelor utilizate la lucrările de formare și întreținere a coroanei rămân necesare pentru prevenirea răspândirii altor agenți patogeni, inclusiv virusuri, bacterii și ciuperci fitopatogene.

Principalele surse de răspândire ale virusului sunt pomii infectați din proximitate și materialul de înmulțire vegetativă (portaltoi, altoi, ramuri) contaminat. În absența controlului fitovirotic, aceste surse pot asigura diseminarea continuă a virusului în

pepiniere și plantații. Prezența și densitatea afidelor vectori în proximitate favorizează infecțiile cu PPV în funcție de sensibilitatea soiurilor de prun (Minoiu, 1997). De asemenea, prezența plantelor gazdă spontane și utilizarea materialului săditor infectat contribuie la extinderea focarelor de infecție.

Răspândirea infecției cu PPV într-o plantație urmează, de regulă, un model progresiv, influențat de localizarea sursei de inocul. În cazul în care pomii provin sănătoși din pepinieră, dar există surse de infecție în apropiere, incidența inițială a bolii este scăzută, crescând treptat pe măsură ce densitatea pomilor infectați și a vectorilor se amplifică (Zagrai L. și colab., 2026a). În schimb, introducerea în plantație a unor pomi deja infectați conduce la o creștere rapidă și extinsă a incidenței virusului, afectând semnificativ producția de fructe. Odată infectați, pomii devin purtători permanenți ai virusului și constituie focare continue de inocul.

Monitorizarea fitovirotică

Monitorizarea periodică a pepinierelor și colecțiilor de germoplasmă este esențială pentru depistarea timpurie a infecțiilor cu PPV. Aceasta se realizează prin inspecții vizuale în perioadele favorabile exprimării simptomelor, primăvara și la începutul verii, completate, atunci când este necesar, de testări serologice sau moleculare.

Deoarece pomii infectați nu pot fi eliberați de virus în condiții de câmp, identificarea rapidă a focarelor și intervenția imediată sunt indispensabile pentru prevenirea răspândirii infecției.

Măsuri de prevenție și control

În absența unor metode curative, managementul PPV se bazează exclusiv pe prevenție și pe limitarea surselor de inocul. Principalele măsuri recomandate sunt:

- ✓ utilizarea materialului săditor certificat, cu status indemn;
- ✓ cultivarea soiurilor rezistente sau tolerante, acolo unde acestea sunt disponibile;
- ✓ amplasarea noilor plantații la distanță de livezile și pomii izolați din speciile gazdă;
- ✓ monitorizarea permanentă a pomilor și eliminarea pomilor infectați;
- ✓ respectarea măsurilor de igienă a uneltelor și aplicarea unor tehnologii de cultură corespunzătoare.

O direcție importantă de cercetare o reprezintă obținerea soiurilor rezistente la PPV. Cel mai notabil exemplu este soiul de prun transgenic „HoneySweet”, rezistent la acest virus, autorizat pentru cultivare în Statele Unite (Scorza și colab., 2013, 2016; Ravelonandro și colab., 2000). Deși evaluările efectuate au confirmat siguranța sa pentru mediu și sănătatea umană, cultivarea acestuia nu este permisă în Uniunea Europeană, deoarece aparține categoriei organismelor modificate genetic, în ciuda rezultatelor favorabile obținute în peste două decenii de testări, inclusiv în România, la

SCDP Bistrița (Zagrai I. și colab., 2008, 2011, 2020, 2023; Zagrai L. și colab., 2021; Zagrai L. și Zagrai I., 2020).

Rezultate importante în ameliorarea rezistenței la PPV prin metode convenționale au fost obținute prin exploatarea mecanismului de hipersensibilitate (Hartmann și colab., 2000; Neumüller și colab., 2005). Utilizarea surselor genetice de rezistență și introducerea acestora în programele de ameliorare au condus la obținerea unor soiuri cu niveluri ridicate de rezistență, constituind o alternativă acceptată pentru controlul bolii Sharka în regiunile în care cultivarea organismelor modificate genetic nu este permisă.

Măsuri de eradicare și limitare a răspândirii

Pomii confirmați ca fiind infectați trebuie eliminați imediat și distruși pentru a evita menținerea surselor de inocul. Deoarece PPV este transmis de afide în mod nepersistent, combaterea chimică a vectorilor are o eficacitate limitată asupra transmiterii primare a virusului. Cu toate acestea, monitorizarea populațiilor de afide și aplicarea rațională a tratamentelor pot contribui la reducerea presiunii de infecție (Zagrai L. și colab., 2010).

Unele produse ecologice cu efect insecticid pot fi integrate atât în sistemele de producție ecologică, cât și în cele convenționale, având rezultate comparabile cu unele insecticide de sinteză în limitarea răspândirii virusului (Moldovan și colab., 2023b). Totodată, conservarea prădătorilor naturali ai afidelor și menținerea echilibrului biologic al ecosistemului contribuie la reducerea populațiilor vectorilor (Cai și colab., 2021).

În pepiniere, aplicarea tratamentelor cu uleiuri minerale poate reduce transmiterea virusului de către afide, deși eficacitatea acestora este influențată de nivelul de infecție existent în zonă (Vidal și colab., 2013). De asemenea, benzile de protecție alcătuite din specii care nu sunt gazde ale PPV și instituirea unor zone-tampon în regiunile cu incidență ridicată pot contribui la limitarea răspândirii acestui virus (Fereres, 2000).

În ansamblu, controlul eficient al virusului plum pox presupune integrarea tuturor acestor măsuri într-un program fitosanitar coerent, bazat pe utilizarea materialului de înmulțire sănătos, monitorizarea continuă a plantațiilor, eliminarea rapidă a surselor de infecție și reducerea presiunii exercitate de vectori. Aplicarea consecventă a acestor măsuri reprezintă baza protejării materialului de înmulțire și plantare cu status indemn și a dezvoltării unor plantații productive și durabile.

5.1.2. *Ilarvirus PDV*

Noua denumire taxonomică a virusului piticirii prunului (prune dwarf virus, PDV) este *Ilarvirus PDV* (ICTV, 2023b). Acesta este considerat unul dintre cele mai răspândite și importante virusuri din grupul *Ilarvirus* (Isometric Labile Ringspot). Boala a fost descrisă pentru prima dată în Statele Unite ale Americii, în anul 1936, de către Thomas și Hildebrand, iar ulterior s-a răspândit în majoritatea regiunilor pomicole ale lumii în care sunt cultivate specii pomicole sâmburoase (Çağlayan și colab., 2011).

Plante gazdă

Principalele plante gazdă ale *Ilarvirus PDV* sunt *Prunus cerasus*, *P. avium*, *P. domestica* și *P. persica*. La prun, sensibilitatea la infecție diferă în funcție de soi, unele soiuri, precum Anna Späth, President și Reine Claude d'Althan, manifestând simptome mai pronunțate și o diminuare progresivă a vigorii pomilor (Nemeth, 1986; Pop, 2009). Unele tulpini ale virusului pot infecta și *P. spinosa*, specie care poate constitui un rezervor natural de infecție, de unde alte specii de *Prunus* se pot contamina prin intermediul polenului infectat (Rankovic și Dulic-Markovic, 1992; Pop, 2009).

Impact economic

Importanța economică a PDV este, în general, mai redusă la prun decât la cireș și vișin, unde poate produce pierderi semnificative. Efectele infecției variază în funcție de planta gazdă, tulpina virală, sensibilitatea soiului, condițiile pedoclimatice și tehnologia de cultură aplicată.

Simptomatologie

La prun, infecția cu PDV poate determina piticirea pomilor, reducerea creșterilor anuale, apariția internodiilor scurte, răsucirea și deformarea frunzelor, precum și, uneori, pete neregulate de culoare verde-deschis pe limbul foliar (Fig. 23). Intensitatea simptomelor este variabilă, iar în anumite condiții, în special la temperaturi ridicate, acestea pot fi slab exprimate sau chiar absente, virusul persistând însă în stare latentă în țesuturile plantei (Çağlayan și colab., 2011).

Detecție

Identificarea PDV poate fi realizată din frunze, muguri, scoarță sau polen, prin metode serologice și moleculare. Tehnica DAS-ELISA este cea mai utilizată în diagnosticul de rutină, datorită fiabilității și ușurinței de aplicare. Pentru studiile privind caracterizarea izolatelor virale, metodele moleculare oferă însă sensibilitate și precizie superioare. Virusul poate fi identificat și prin indexare biologică pe plante indicatoare sensibile, urmată de testare de laborator. În procesul de producere a materialului de înmulțire din categoriile biologice superioare, plantele-mamă sunt monitorizate prin inspecții periodice și testări fitosanitare specifice pentru acest virus.



Figura 23. Simptome ale infecției *Ilarvirus PDV* pe frunze de prun (original)

Transmitere

Transmiterea PDV are loc prin altoire, sămânță și polen, nefiind cunoscut până în prezent niciun vector implicat în răspândirea naturală a virusului (Fulton, 1981; Maxim și colab., 2002).

Măsuri de control

Principala măsură de prevenire a infecțiilor cu PDV constă în utilizarea materialului săditor cu status indemn la înființarea plantațiilor de specii sămburoase. În livezile tinere se recomandă monitorizarea atentă a stării fitosanitare (Minoiu, 1997; Zagrai I. și colab., 2022).

Există diferențe importante între plantațiile infectate încă de la înființare, ca urmare a utilizării materialului de plantare contaminat, și cele în care infecțiile apar ulterior, în perioada de exploatare, prin polen infectat. În general, infecțiile instalate după intrarea pe rod au efecte mai reduse asupra vigoriei pomilor, productivității și longevității plantației comparativ cu cele prezente încă din faza de înființare a livezii.

Limitarea răspândirii PDV în plantațiile pe rod se bazează în principal pe utilizarea materialului de înmulțire certificat și pe evitarea amplasării noilor plantații în apropierea surselor cunoscute de infecție. Având în vedere transmiterea naturală a virusului prin polen, se recomandă menținerea unei izolări spațiale corespunzătoare față de plantațiile sau exemplarele infectate.

Respectarea măsurilor generale de igienă fitosanitară contribuie la menținerea stării de sănătate a plantațiilor, însă controlul eficient al PDV depinde în primul rând de prevenirea introducerii virusului prin materialul de plantare și de limitarea surselor de inocul.

5.1.3. *Ilarvirus PNRSV*

Odată cu adoptarea denumirii binomiale a speciilor virale, virusul pătării inelare necrotice a prunului (*Prunus necrotic ringspot virus*, PNRSV) a fost redenumit *Ilarvirus PNRSV* (ICTV, 2023c). Virusul infectează numeroase specii pomicole sămburoase și este răspândit în toate regiunile de cultură ale acestora. A fost semnalat pentru prima dată la piersic, în Statele Unite ale Americii, în anul 1941, de către Cochran și Hutchins, fiind considerat unul dintre cele mai importante ilarvirusuri ale speciilor din genul *Prunus* (Pop, 2009).

Plante gazdă

Principalele gazde naturale ale PNRSV aparțin genurilor *Prunus* și *Rosa* (Németh, 1986). Virusul infectează numeroase specii pomicole sămburoase, inclusiv prunul, și poate fi menținut experimental pe plante erbacee precum *Chenopodium quinoa* și *Cucumis sativus* (Hammond, 2011).

Impact economic

PNRSV produce cele mai importante pagube în pepiniere, unde determină reducerea creșterii plantelor, uscarea vârfurilor lăstarilor și diminuarea procentului de prindere la altoire, afectând uniformitatea materialului săditor (Németh, 1986; Pop, 2009). Plantațiile înființate cu material infectat prezintă o dezvoltare redusă, producții mai mici și o durată de exploatare diminuată comparativ cu cele în care infecțiile apar ulterior prin polen.

Simptomatologie

Manifestarea infecției începe adesea printr-o reacție de șoc, urmată de o fază de recuperare în care simptomele se atenuează sau dispar temporar (Fulton, 1981). Pe frunzele tinere apar pete și inele clorotice (Fig. 24) care ulterior devin necrotice, iar țesuturile afectate se desprind, conferind frunzelor un aspect perforat.

La unele soiuri se observă benzi sau inele necrotice bine delimitate, în timp ce la altele, precum Anna Späth și Reine Claude d'Althan, simptomele se reduc la pete clorotice discrete (Minoiu și Lefter, 1987). Soiurile Tuleu gras, d'Agen și Vânător de Italia manifestă frecvent pete necrotice foliare (Minoiu, 1997).

În anumite situații, simptomele dispar complet, virusul persistând în stare latentă în țesuturile plantei (Pop, 2009). Infecția poate provoca întârzierea pornirii în vegetație și a înfloririi, sensibilitate crescută la ger și întârzierea maturării fructelor. În infecțiile mixte, în special asociate cu PDV, poate apărea un declin progresiv al pomilor (Hammond, 2011). Intensitatea simptomelor este influențată de specie, soi, tulpina virală și condițiile de mediu.

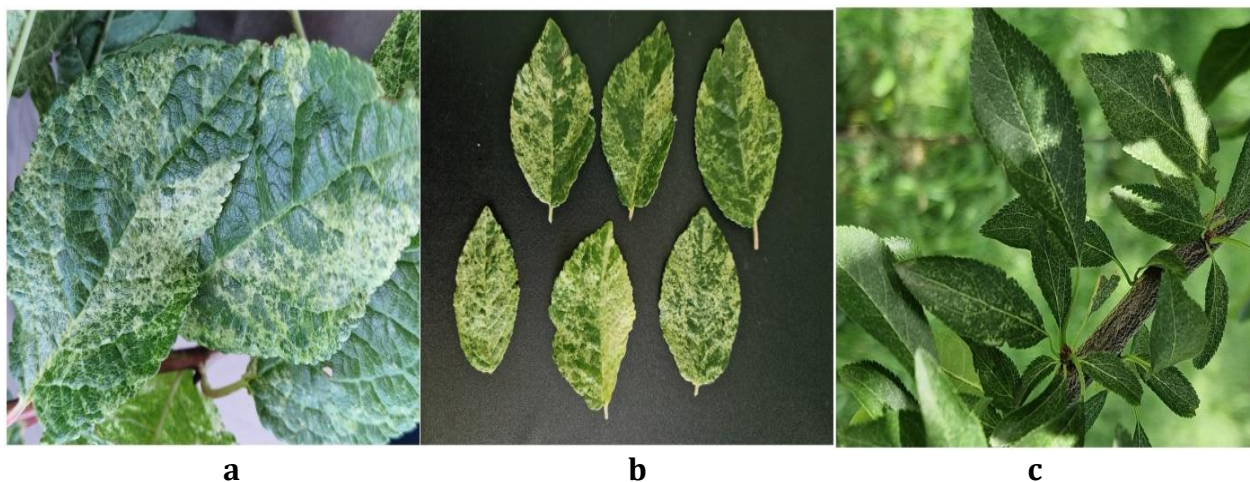


Figura 24. Simptome ale infecției cu PNRSV pe frunze la soiul de prun Romaner (a și b) și la mirobolan (c) - original

Detectție

PNRSV poate fi detectat în frunze, muguri, scoarță sau polen prin metode serologice și moleculare. Tehnica DAS-ELISA este utilizată pe scară largă în diagnosticul de rutină, iar metodele moleculare permit atât detectarea, cât și diferențierea izolatelor virale (Hammond, 2011). Virusul poate fi identificat și prin indexare biologică pe plante indicatoare sensibile. În procesul de certificare a materialului de înmulțire din categoriile biologice superioare, plantele sunt supuse inspecțiilor vizuale și testărilor fitosanitare specifice.

Transmitere

PNRSV se transmite prin altoire, sămânță și polen, răspândirea sa fiind favorizată de utilizarea materialului de plantare infectat. Până în prezent nu au fost identificați vectori implicați în transmiterea naturală a virusului (Amari și colab., 2009; Hammond, 2011).

Măsuri de control

Prevenirea infecțiilor cu PNRSV se bazează în principal pe utilizarea materialului săditor certificat, cu status indemn. Infecțiile instalate încă de la înființarea plantației au efecte mai severe asupra vigoriei, productivității și longevității pomilor decât cele apărute ulterior, prin polen infectat. De asemenea, amplasarea noilor plantații trebuie realizată la distanțe care să reducă riscul de contaminare din sursele existente de infecție.

Monitorizarea fitosanitară a plantațiilor tinere și aplicarea măsurilor corespunzătoare contribuie la limitarea răspândirii virusului și la menținerea unei stări fitosanitare adecvate.

5.1.4. *Ilarvirus ApMV*

Virusul mozaicului mărilor, denumit apple mosaic virus (ApMV), este agentul etiologic al mai multor boli de tip mozaic la plantele gazdă. Conform ICTV (2023d), denumirea taxonomică actuală este *Ilarvirus ApMV*.

Virusul a fost raportat pentru prima dată în 1933 la măr de către Bradford și Joly (Petrzik și Lenz, 2011), de unde provine și denumirea sa. Ulterior, Atanasoff (1935) a descris manifestări de tip mozaic și la speciile pomicele sămburoase (Paunovic și colab., 2011).

Plante gazdă

ApMV infectează numeroase specii pomicele, arbuști fructiferi, trandafirul și hameiul, fiind raportat la peste 65 de specii lemnoase și erbacee (Fulton, 1981). În Europa, este întâlnit mai frecvent la speciile din genul *Prunus* decât la cele din genul *Malus* (Paunovic și colab., 2011).

Impact economic

Virusul are distribuție globală, inclusiv în România. Infecțiile singulare produc, de regulă, pierderi reduse, însă în asocieri cu PNRSV și PDV la speciile sămburoase pot apărea efecte sinergice, cu impact economic semnificativ (Myrta și colab., 2003).

Simptomatologie

La soiurile sensibile apar pete clorotice neregulate, decolorări difuze, benzi și mozaic liniar (Németh, 1986). Simptomele se manifestă mai frecvent la începutul verii și pot fi distribuite neuniform în coroana pomilor (Fig. 25).

Intensitatea variază în funcție de tulpina virală, specie, soi și condițiile climatice (Umer și colab., 2019). În unele cazuri, petele clorotice pot evolua spre necroze și defoliere prematură. Fructele sunt, în general, asimptomatice. La speciile sămburoase, infecția poate determina reducerea vigoriei și a producției, în special la migdal (Paunovic și colab., 2011).

Detecție

Simptomele vizuale nu oferă un diagnostic sigur al ApMV, deoarece manifestări similare pot fi produse și de alte virusuri ale sămburoaselor, precum PNRSV și *Ilarvirus APLPV* (American plum line pattern virus, APLPV). Detecția se bazează pe metode serologice și moleculare. Concentrația virală este mai ridicată în muguri forțați, petale și frunze tinere, variind sezonier și în funcție de tipul de țesut, ceea ce influențează sensibilitatea testelor (Nabi și colab., 2023).

În procesul de obținere a materialului de înmulțire din categoriile biologice superioare plantele sunt supuse inspecțiilor periodice și testărilor serologice și la acest virus.



Figura 25. Simptome ale infecției cu *Ilarvirus ApMV* la specii din genul *Prunus*

(Sursa: <https://gd.eppo.int/taxon/APMV00/photos>)

Transmitere

ApMV nu are vectori biologici cunoscuți. Transmiterea se realizează prin altoire și material de înmulțire infectat (Paunovic și colab., 2011). Nu a fost detectat în polenul de prun sau cais și nici în sămânța de migdal provenită din plante infectate, ceea ce indică absența transmiterii prin polen și semințe (Digiario și colab., 1992; Barba și colab., 1986).

În pepiniere, răspândirea poate fi facilitată de contactul direct între plantele infectate și cele sănătoase prin material radicular sau operații mecanice.

Măsuri de control

Controlul bolilor provocate de virusul mozaicului mărului este relativ facil deoarece virusul nu se transmite prin polen, sămânță sau vectori naturali. Astfel, în condiții de livadă, utilizarea la plantare a unui material cu adevărat sănătos, constituie principala măsură preventivă, de limitare și control a bolilor virotice produse de acest virus.

5.1.5. *Trichovirus mali*

Conform ICTV (2023e), noua denumire a Apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV) este *Trichovirus mali*, cunoscut ca virusul pătării clorotice a frunzelor la măr. ACLSV este un agent patogen viral specific genului *Malus*, dar infectează și specii din genul *Prunus*, cum sunt prunul, piersicul, caisul, cireșul, vișinul și migdalul.

Impact economic

Importanța economică a ACLSV este determinată de larga sa răspândire, virusul fiind prezent în majoritatea zonelor de cultură ale speciilor pomicele semințoare și sămburoase (Yoshikawa, 2001). Deși la multe specii infecția poate rămâne în stare

latentă, anumite izolate virale afectează calitatea fructelor și longevitatea pomilor, iar în infecții mixte pierderile economice se pot amplifica (Németh, 1986).

Simptomatologie

Manifestările simptomatologice produse de ACLSV sunt variabile, în funcție de specie, soi, tulpină virală și condițiile de mediu (Pop, 2009). La prun au fost descrise crăpături ale scoarței (Fig. 26a), fenomene de incompatibilitate la altoire, dar și sindromul de pseudopox (Pop, 2009). Pe indicatorul *P. persica* GF305, simptomele de ACLSV sunt evidențiate prin benzi clorotice, pete neregulate de culoare mai închisă (Fig. 26b).

În infecții mixte, în special asocierea ACLSV cu PNRSV, au fost raportate simptome severe, precum necrozarea fructelor de cireș, sugerând un efect sinergic între agenții implicați (Myrta și colab., 2011).



Figura 26. Simptome produse de infecțiile cu ACLSV la:
a. *P. domestica*; b. *P. persica* GF305 (b) (original)

Transmitere

ACLSV se transmite exclusiv prin altoire și prin înmulțire vegetativă a materialului infectat. Nu există dovezi privind transmiterea prin sămânță, polen ori prin vectori biologici.

Detecție

Simptomele vizuale nu sunt suficiente pentru identificarea sigură a ACLSV, deoarece același virus poate determina manifestări diferite sau poate rămâne asimptomatic, în special la speciile sâmburoase.

Diagnosticul se bazează pe indexarea biologică pe plante indicator (Jelkmann, 2001), în special *P. persica* GF 305, precum și pe metode serologice și moleculare, cu sensibilitate și specificitate ridicate.

ACLSV este inclus în programele de certificare a materialului săditor, unde plantele din categoriile biologice superioare sunt supuse inspecțiilor și testărilor periodice.

Măsuri de control

Cea mai eficientă măsură preventivă constă în utilizarea materialului săditor cu status indemn. În lipsa acestuia, eliminarea virusului din materialul biologic inițial se poate realiza prin tehnici de devirozare în condiții de laborator, precum termoterapia, chimioterapia sau combinații ale acestora, în vederea obținerii de clone sănătoase.

5.1.6. *Nepovirus cerasiferae*

Nepovirus cerasiferae, denumire recentă pentru Myrobalan latent ring spot virus (MLRSV) – virusul latent al pătării inelare a mirobolanului – a fost adoptată de ICTV în 2022, în contextul actualizării nomenclaturii binomiale a speciilor virale (ITCV, 2022a).

Plante gazdă și impact economic

MLRSV este un nepovirus al genului *Prunus*, întâlnit frecvent la mirobolan. Importanța economică este redusă, fiind asociat cu o distribuție limitată (Martelli și Uyemoto, 2011).

Simptomatologie

Nepovirus cerasiferae este, în general, un virus latent sau cu expresie simptomatică redusă, însă poate afecta negativ vigoarea plantelor, în special la mirobolan (Dunez și colab., 1971; Pop, 2009). Deși simptomele pot fi reduse sau absente la unele soiuri, virusul poate influența compatibilitatea dintre portaltoi și altoi în anumite combinații, ceea ce evidențiază importanța controlului său în cadrul programelor de certificare a materialului săditor.

Secvențierea completă a genomului MLRSV (Khalili și colab., 2024) a adus clarificări privind structura genetică, organizarea genomică și relațiile filogenetice ale acestui nepovirus, contribuind la înțelegerea biologiei sale și a poziționării taxonomice.

Transmitere

Până în prezent nu au fost identificați vectori specifici pentru *N. cerasiferae*, spre deosebire de alte nepovirusuri. Transmiterea naturală este insuficient elucidată și este asociată, în principal, cu utilizarea materialului de înmulțire infectat, prin altoire.

Detecție

Detecția se realizează prin testare pe indicatori erbacei și/sau lemnoși (Fig. 27), precum și prin metode serologice și moleculare. Aceste tehnici sunt esențiale în programele de producere a materialului săditor cu status indemn la prun.



Figura 27. Simptome tipice de pete inelare pe frunzele de *Nicotiana tabacum* infectate sistemic cu MLRSV

(Sursa: <https://www.dpvweb.net/dpv/showdpv/?dpvno=160>)

Măsuri de control

Managementul infecțiilor cu MLRSV se bazează pe prevenție: utilizarea materialului săditor indemn, testarea periodică serologică și/sau moleculară și evitarea multiplicării materialului infectat.

5.1.7. *Nepovirus lycopersici*

Virusului pătării inelare a tomatelor, Tomato ringspot nepovirus (ToRSV), denumit recent *Nepovirus lycopersici* (ICTV, 2022b), infectează un spectru larg de plante gazde, incluzând specii legumicole, ornamentale, vița de vie, precum și specii pomicole, în special sămburoasele.

ToRSV a fost descris pentru prima dată în Statele Unite ale Americii, de Preece, în 1936, la tutun. Răspândirea sa este strâns legată de prezența nematozilor vectori din genul *Xiphinema*, fiind semnalat predominant în SUA și în alte regiuni unde acești vectori sunt prezenți (EPPO, 2026a). Conform Ordinului MADR nr. 92/2025, care completează Ordinul MADR nr. 784/2016, materialul de înmulțire din categoriile biologice superioare trebuie supus inspecției vizuale și, după caz, testării pentru detectarea acestui virus.

Impact economic

Impactul economic al infecțiilor cu ToRSV este determinat de reducerea calității fructelor și a producției, cu intensitate variabilă în funcție de tulpina virală implicată (Martelli și Uyemoto, 2011). În Uniunea Europeană, impactul este considerat redus, virusul fiind semnalat doar sporadic (EPPO, 2026a).

Simptomatologie

La speciile de *Prunus*, în funcție de tulpina virală, pot să apară deformări ale lemnului tulpinii (piersic, prun, cireș), decolorarea brună a țesuturilor plantei în lemn (prun)(Hoy și Mircetich, 1984), decolorarea și deformarea frunzelor tinere (Fig. 28) care apar din mugurii infectați (piersic, migdal) (Gonsalves, 1995). Simptomele apar mai întâi local și apoi se extind.



Figura 28. Simptome de mozaicare și deformare ale frunzelor infectate cu ToRSV

(Sursa: Marc Fuchs, Cornell University; <https://gd.eppo.int/taxon/TORSV0/photos>)

Detectie

Detectia se realizează prin combinarea indexării biologice pe plante indicator cu metode serologice și moleculare, completate de monitorizarea atentă a simptomelor în teren (Martelli și Uyemoto, 2011).

Transmitere

Transmiterea are loc ocazional prin semințe (Murant, 1983) și prin altoire sau inoculare mecanică, însă principalul mod de răspândire în câmp este prin nematozi vectori, în special *Xiphinema americanum* sensu lato, care se hrănesc cu rădăcinile plantelor (Brown și colab., 1994). Aceștia pot persista îndelung în sol și pot transmite virusul chiar și la temperaturi scăzute (Bitterlin și Gonsalves, 1986).

Măsuri de control

Controlul infecțiilor este dificil, ceea ce face ca măsurile profilactice să fie esențiale. Acestea includ utilizarea de material săditor sănătos și, unde este posibil, a soiurilor sau portaltoilor toleranți la nematozi (Pop, 2009). Sunt importante menținerea igienei fitosanitare, evitarea transferului de sol contaminat și prevenirea scurgerii apei din zone infectate către plantațiile sănătoase. Combaterea buruienilor din livezi, vii și plantații de arbuști contribuie suplimentar la reducerea riscului de infecție.

5.2. Fitoplasme

Genul '*Candidatus Phytoplasma*' a fost creat pentru a încadra bacterii lipsite de perete celular, localizate în floemul plantelor și în țesuturile insectelor vectori. Această clasificare are relevanță în studiile epidemiologice și ecologice, contribuind la înțelegerea și limitarea bolilor fitoplasmatice cu impact major la nivel global.

Grupul 16SrX, asociat proliferării mărului, cuprinde fitoplasme cu importanță economică ridicată în pomicultură: *Candidatus Phytoplasma mali*, agentul proliferării mărului (Apple proliferation, AP), *Candidatus Phytoplasma pyri*, agentul declinului părului (Pear decline, PD) și *Candidatus Phytoplasma prunorum*, agentul îngălbenirii europene a sămburoaselor (European Stone Fruit Yellows, ESFY) (Seemüller și Schneider, 2004; Cieślińska, 2011; EPPO, 2020a - PM 7/62 (3)).

5.2.1. *Candidatus Phytoplasma prunorum*

Candidatus Phytoplasma prunorum (PHYPPR) este unul dintre cei mai importanți agenți patogeni ai speciilor din genul *Prunus* din Europa și regiunea mediteraneană (Seemüller și Schneider, 2004; Steffek și colab., 2012). În afara Europei, fitoplasma a fost identificată în Egipt și Iran (EPPO, 2026b).

În România boala a fost raportată doar la cais și piersic (Trandafirescu și colab., 2011). Speciile cele mai sensibile includ caisul, piersicul și prunul japonez, în timp ce alte gazde, precum porumbarul, corcodușul și migdalul, pot funcționa ca rezervoare naturale. Vișinul și prunul european sunt, în general, mai puțin afectate sau pot manifesta simptome discrete (Marccone și colab., 2011).

Impact economic

Boala ESFY reprezintă un factor limitativ major pentru producția de fructe în numeroase regiuni pomicole europene, unde determină pierderi economice considerabile prin uscarea prematură a pomilor, în special la cais (Gazel și colab., 2009), piersic și prun japonez (Marccone și colab., 2011).

Pomii infectați prezintă reducerea producției și a vigorii (Nečas și colab., 2018), iar genotipurile sensibile pot deveni neproductive la 8–10 ani de la plantare (Marccone și colab., 2011). Mai mult, aceste infecții afectează procesele reproductive, prin reducerea legării fructelor și a germinării polenului la cais (Nečas și colab., 2018).

Simptomatologie

Simptomele induse de *Ca. P. prunorum* variază în funcție de specie, condițiile climatice, tulpina fitoplasmei, vârsta pomului și dinamica vectorilor (Seemüller și Foster, 1995; Thébaud și colab., 2006). Manifestările frecvente includ răsucirea frunzelor, îngălbenirea sau înroșirea acestora în timpul vegetației, pornirea prematură în vegetație și înflorirea anticipată, urmate de brunificarea și necrozarea floemului, declin progresiv (Fig. 29) și reducerea producției (Laviña și colab., 2004; EPPO, 2020a).

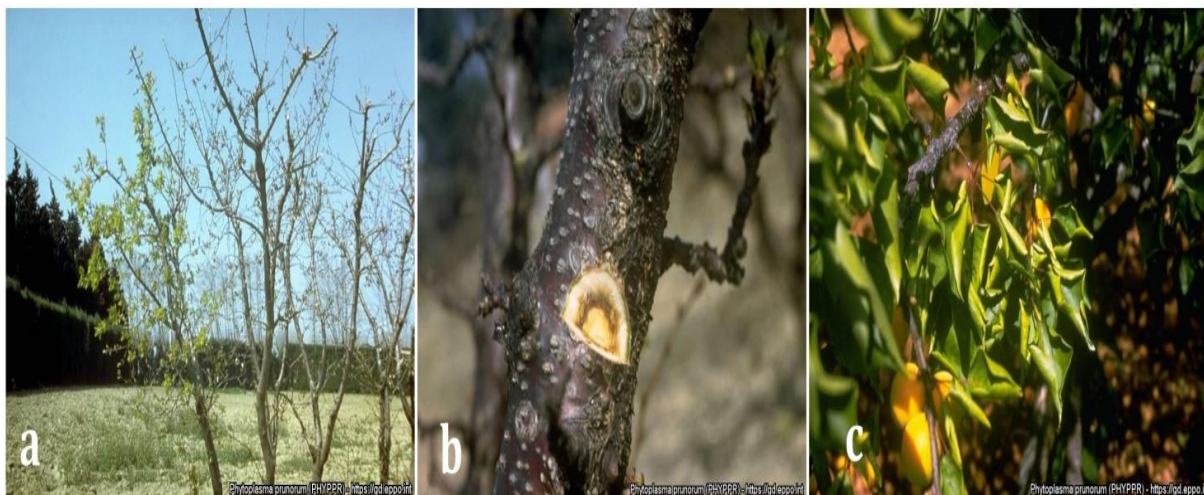


Figura 29. Simptome tipice ale infecției cu fitoplasma *Ca. P. prunorum* la cais.

- a. Apariția precoce a frunzelor primăvara; b. Brunificarea și necrozarea stratului median al scoarței, respectiv a floemului, după o iarnă severă; c. Simptome caracteristice de răsucire a frunzelor
(Foto: G. Morvan, INRA, Montfavet (FR); <https://gd.eppo.int/taxon/PHYPPR/photos>)

La nivel fiziologic, infecția este asociată cu alterări ale metabolismului plantei, inclusiv degradarea clorofilei, modificări ale conținutului mineral și ale compușilor fenolici și flavonoidici, precum și dereglări ale sintezei proteinelor. Pot apărea proliferări de tip „mături de vrăjitoare” și creșteri vegetative anormale (Marccone și colab., 2011; Trempetić și colab., 2025).

În cazul piersicului, au fost descrise simptome de tip „îngălbenire” asociate cu declin sever (Poggi Pollini și colab., 2001).

Cireșul și vișinul nu prezintă, de regulă, simptome vizibile, fiind considerate gazde tolerante sau rezistente, cu multiplicare limitată a fitoplasmei (Dosba și colab., 1990; Jarausch și colab., 1999). În schimb, caisul, piersicul și prunul japonez sunt speciile cele mai afectate.

Mod de transmitere

Transmiterea naturală are loc prin psilidul *Cacopsylla pruni* (Scopoli, 1763), vector principal în Europa (Carraro și colab., 2004; Marccone și colab., 2010). Insecta este oligofagă, asociată în principal cu specii din genul *Prunus*, unde realizează hrănirea și reproducerea. *C. pruni* transmite fitoplasma în manieră persistentă, perioada minimă de achiziție fiind de 2–4 zile, urmată de o perioadă latentă de aproximativ 2–3 săptămâni în organismul insectei. Transmiterea către o plantă sănătoasă necesită o perioadă minimă de inoculare de 1–2 zile (Carraro și colab., 2001).

Hrănirea psilidului poate induce simptome directe, precum deformări foliare, cloroze și reducerea vigoriei lăstarilor, dar rolul epidemiologic major este legat de transmiterea fitoplasmei. În urma infectării, pomii pot manifesta declin progresiv, iar în absența măsurilor de control pot apărea pierderi economice semnificative, întrucât nu există tratament curativ (Bodnár și colab., 2018).

C. pruni este o specie univoltină, cu o singură generație pe an. Adulții iernează pe conifere, iar la sfârșitul iernii sau începutul primăverii migrează către plantele-gazdă din genul *Prunus*, unde are loc împerecherea și depunerea ouălor pe frunze și pețiole. Adulții noii generații apar la sfârșitul primăverii sau începutul verii, după care părăsesc plantele de *Prunus* și migrează către conifere, unde petrec perioada de vară și iernează până la migrația din primăvara următoare (Thébaud et al., 2008).

Gazdele sălbatice, precum porumbarul și corcodușul, contribuie semnificativ la menținerea rezerve de inocul fitoplasmatic (Carraro și colab., 2004; Yvon și colab., 2004).

Psilidul transmite fitoplasma, care invadează țesuturile floematice ale speciilor din genul *Prunus* (Carraro și colab., 1998; Marcone și colab., 2010), ceea ce îi conferă speciei un rol epidemiologic major în livezile de sămburoase (Labonne și Lichou, 2003; Bodnár și colab., 2018).

Primele simptome ale infecției apar după o perioadă latentă de aproximativ opt luni de la migrarea psilidului, în primăvară (Thébaud și colab., 2008). Transmiterea prin semințe nu a fost demonstrată, însă materialul săditor infectat reprezintă o cale esențială de diseminare în pepiniere și livezi (Marcone și colab., 2011).

Detectie

Dectia se bazează pe confirmarea prin tehnici de laborator, după evaluarea simptomelor vizuale. Cele mai utilizate metode includ nested-PCR urmat de RFLP (Jarausch și colab., 2000) și real-time PCR (Torres și colab., 2005). Se recomandă prelevarea de nervuri foliare și țesut floematic din ramuri de 2–3 ani, perioada optimă de testare fiind sfârșitul verii - începutul toamnei, când concentrația fitoplasmei este maximă.

Măsuri de control

Nu există tratamente curative pentru boala ESFY. Strategiile de control se bazează pe prevenție și gestionarea vectorului. Monitorizarea populațiilor de *C. pruni* cu ajutorul capcanelor lipicioase permite stabilirea momentului optim de intervenție (Paleskić și colab., 2017; Bodnár și colab., 2022).

Capcanele albe sunt utile pentru detectarea timpurie a adulților în perioada de migrație. Aplicarea tratamentelor cu insecticide trebuie corelată cu dinamica populației vectorului (Carraro și colab., 2001).

În controlul chimic al vectorilor sunt utilizate substanțe active precum acetamiprid, spirotetramat, deltametrin, lambda-cyhalothrin sau pirimicarb (Paleskić și colab., 2017), aplicate conform recomandărilor fitosanitare în vigoare.

Un management eficient al livezilor include și înlăturarea drajonilor, care fiind suculenți sunt preferați de psilide (Labonne și Lichou, 2003).

Spre deosebire de măr și păr, pentru care au fost obținute genotipuri rezistente la fitoplasmele specifice, *Ca. P. pyri* și *Ca. P. mali* (Seemüller și colab., 2009; Jarausch și

colab., 2011), la speciile de *Prunus* nu au fost identificate până în prezent genotipuri rezistente la această fitoplasmă. Totuși, între speciile acestui gen s-a observat o variabilitate ridicată a manifestării simptomelor. În general, toleranță ridicată se întâlnește la genotipurile de prun european și corcoduș, toleranță moderată la *Prunus insititia*, iar susceptibilitate ridicată la piersic și cais (Dosba și colab., 1990; Kison și Seemüller, 2001; Martini și colab., 2011).

În absența posibilității de eradicare, ESFY este considerată o boală greu de încadrat în regim strict de carantină, iar controlul său se bazează în principal pe utilizarea materialului săditor sănătos și pe măsuri preventive integrate (Steffek și colab., 2012; EPPO, 2019).

5.3. Bacterii

Bacteriile fitopatogene reprezintă un factor limitativ important în cultura prunului având capacitatea de a produce infecții sistemice sau localizate care afectează creșterea, productivitatea și longevitatea plantațiilor. Spre deosebire de unele boli criptogamice, infecțiile bacteriene sunt adesea dificil de controlat după instalare, iar măsurile curative sunt limitate. Din acest motiv, monitorizarea atentă a livezilor, utilizarea materialului săditor Certificat și aplicarea măsurilor de igienă fitosanitară reprezintă componente esențiale ale managementului integrat.

Importanța supravegherii bacteriozelor la prun derivă din capacitatea acestora de a se răspândi prin material infectat, ploi, vânt, unelte sau prin leziuni produse de factori biotici și abiotici. Detectarea timpurie a simptomelor, precum cancere, exsudate bacteriene, pete necrotice pe frunze sau uscări de ramuri, permite limitarea focarelor și reducerea pierderilor economice.

Dintre bacteriile semnalate la prun, cu importanță deosebită și menționate în legislația necesară certificării materialului de înmulțire cu status indemn la specia prun, sunt: *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, responsabilă de pătarea bacteriană a frunzelor și fructelor sâmburoaselor, *Agrobacterium tumefaciens*, agentul etiologic al tumorilor radiculare, precum și *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum*, implicată în apariția cancerului bacterian la sâmburoase.

Prezența acestor patogeni în plantațiile de prun poate conduce la deprecierea calității fructelor, reducerea producției și chiar compromiterea parțială sau totală a livezilor, în condiții favorabile infecției.

5.3.1. *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*

Xanthomonas arboricola pv. *pruni* este o bacterie fitopatogenă gram-negativă din familia Xanthomonadaceae, genul *Xanthomonas*. Bacteria este cunoscută pentru transmiterea prin material săditor infectat, precipitații, vânt, insecte sau prin rănilor produse în urma lucrărilor agrotehnice, fiind favorizată de condiții de umiditate ridicată și temperaturi moderate. Infecțiile pot determina pierderi importante de producție și

reducerea longevității plantațiilor pomicole. Boala a fost semnalată încă din anul 1902 la prunul japonez, în SUA. În România a fost identificată în anul 1956 (Minoiu și Lefter, 1987; Agrios, 2005).

Simptomatologie

Atacul provocat de bacteria *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* se manifestă pe toate organele aeriene ale pomilor (frunze, fructe, lăstari, ramuri, tulpină). Pe frunze, simptomele se manifestă sub forma unor pete verzi-gălbui la început, apoi acestea devin brun-roșcat, rotunde, de aproximativ 2 mm diametru, înconjurată de o aureolă îngustă acoperită de un exsudat abundent, gălbui.

Țesuturile din partea centrală a zonei infectate se necrozează în timp și cad, dând aspect de ciuruire a frunzelor (Fig. 30). Atacul bolii localizat în zona pețiolului produce fenomenul de cădere prematură a frunzelor (Minoiu și Lefter, 1987; Lamichhane, 2014). Fructele atacate prezintă pete mici de 1,5 mm diametru, de culoare brun-roșcat, circulare, adâncite în pulpa fructelor adeseori înconjurată de un inel verde închis. În condiții de atac sever, numărul petelor poate fi foarte mare.



Figura 30. Simptome ale infecției cu *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*

(sursa: <https://gd.eppo.int/taxon/XANTPR/photos>)

Lăstarii afectați de boală prezintă leziuni alungite, însoțite de scurgeri cleioase. În condiții de mediu favorabile, acestea se pot extinde și inelar, întrerupând circulația sevei și provocând îndoirea și uscarea vârfului lăstarului. Ramurile și tulpina atacate prezintă ulceratii deschise lungi de 5-25 cm, 1-5 cm lățime și 0,5 cm adâncime însoțite de scurgeri de gome. La soiurile sensibile ulceratiile se pot extinde la ramuri de schelet și chiar tulpină, provocând uscarea treptată a pomului. Soiurile care manifestă o sensibilitate crescută la infecțiile provocate de *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* sunt: Anna Späth, Vînăt de Italia, Blue Free, Tuleu gras, Gras românesc, Tuleu dulce etc (Minoiu și Lefter, 1987; Severin și Iliescu, 2006).

Impact economic

Infecțiile produse de *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* determină pierderi economice semnificative în culturile de sămburoase, prin reducerea producției și

deprecierea calității fructelor. Atacul asupra frunzelor, lăstarilor și fructelor conduce la defoliere prematură, slăbirea vigoriei pomilor și diminuarea cantității și valorii comerciale a recoltei.

În pepiniere, infecțiile pot compromite materialul săditor, limitând producerea de plante din categoria Certificat, generând pierderi economice pentru pepinieriști (Babović și colab., 2000; Garita-Cambronero și colab., 2018).

Mod de răspândire

Infecția se produce în special prin stomate la nivelul frunzelor, prin lenticele la nivelul ramurilor și lăstarilor sau prin răni mecanice provocate de factori climatici, insecte ori lucrări de întreținere. Atacul cel mai intens la speciile sămburoase este înregistrat în lunile mai–iunie, când sunt întrunite condițiile optime de temperatură și umiditate (70–90%). Precipitațiile, roua și umiditatea atmosferică favorizează și stimulează răspândirea patogenului. În condiții nefavorabile, bacteria poate persista în stare latentă în țesuturile infectate, reluându-și activitatea în sezonul următor, atunci când condițiile de mediu devin favorabile. Agentul patogen iernează, în principal, în ulcerările formate pe lăstari și ramuri (Minoiu și Lefter, 1987; Lamichhane, 2014).

Morfologia speciei

X. arboricola pv. *pruni* este o bacterie fitopatogenă gram-negativă, aerobă, în formă de bastonașe (bacili), de dimensiuni reduse, caracteristice genului *Xanthomonas*. Celulele bacteriene sunt mobile datorită prezenței unui flagel polar, care facilitează deplasarea în mediul umed de la suprafața țesuturilor vegetale. Bacteria are formă bacilară, celulele având aspect de bastonașe, cu dimensiuni de 0,3-0,7 x 0,8-1,7 μm. Pe medii nutritive artificiale la temperaturi de 26°C, bacteriile formează în 1-2 zile colonii circulare, netede, ușor convexe, de culoare galbenă, datorită producerii pigmentului xantomadină, specific acestui gen bacterian. Peretele celular prezintă structura tipică bacteriilor gram-negative, cu membrană externă bogată în lipopolizaharide, care contribuie la rezistența față de condițiile de mediu și la interacțiunea cu planta gazdă (Minoiu și Lefter, 1987; Severin și Iliescu, 2006).

Biologia și ecologia speciei

Patogenul este o bacterie fitopatogenă care se dezvoltă în condiții de umiditate ridicată și temperaturi moderate, factori care favorizează multiplicarea și răspândirea agentului patogen. Pragul biologic de dezvoltare al bacteriei este cuprins între 7°C și 38°C, optimul situându-se în jurul valorii de 25–28°C. Bacteria supraviețuiește de la un sezon la altul în leziunile existente pe ramuri, muguri, scoarță sau în resturile vegetale infectate, acestea reprezentând principalele surse de inocul. În timpul perioadelor ploioase, celulele bacteriene sunt dispersate prin picăturile de apă, vânt, insecte sau prin lucrările agrotehnice, ajungând pe organele sensibile ale plantelor gazdă (Minoiu și Lefter, 1987).

Din punct de vedere ecologic, patogenul este strâns dependent de factorii climatici și de prezența materialului săditor infectat, care contribuie semnificativ la menținerea și extinderea infecțiilor în livezi și pepiniere (Minoiu și Lefter, 1987; Lamichhane, 2014).

Măsuri de prevenție și control

Se recomandă aplicarea de măsuri de igienă fitosanitară, utilizarea de soiuri rezistente, acolo unde există, formarea de coroane rarefiate care permit pătrunderea aerului și zvântarea mai rapidă a frunzelor după ploaie sau rouă (Minoiu și Lefter, 1987). Pentru a reduce incidența bolii se recomandă aplicarea de produse cuprice care stopează infecțiile produse de patogen (Olson și Jones, 1983; Hussein și Akköprü, 2020). În plus, se impune monitorizarea periodică a livezilor pentru identificarea timpurie a frunzelor, lăstarilor și fructelor afectate, precum și aplicarea tratamentelor în momentele critice de dezvoltare a patogenului, combinând astfel măsurile preventive culturale cu intervențiile chimice pentru o eficiență sporită în controlul bolii. De asemenea, eliminarea și distrugerea ramurilor și fructelor infectate contribuie la reducerea sursei de inocul, limitând răspândirea bacteriei în întreaga livadă.

5.3.2. *Agrobacterium tumefaciens*

Agrobacterium tumefaciens este o bacterie fitopatogenă prezentă în sol, capabilă să infecteze plantele dicotiledonate prin intermediul rănilor și să inducă formarea galeilor, fiind considerată unul dintre cei mai importanți agenți patogeni ai plantelor. Aceasta cauzează boala denumită cancer bacterian care se manifestă prin formarea de tumori la nivelul rădăcinilor sau al coletului plantelor (Minoiu și Lefter, 1987).

Un aspect remarcabil al acestei bacterii este capacitatea sa de a transfera o secvență specifică de ADN, denumită T-DNA, din plasmidul său Ti (*tumor-inducing plasmid*) în genomul gazdei vegetale. Această caracteristică nu numai că explică mecanismul patogen al bacteriei, dar a devenit și un instrument esențial în biotehnologia vegetală, fiind utilizată pe scară largă pentru crearea de plante transgenice.

Studiile asupra *A. tumefaciens* au contribuit semnificativ la înțelegerea interacțiunilor bacterie–plantă și a mecanismelor de transfer genetic între regnuri diferite (Gustavo și colab., 1998; Azizi-Dargahlou și Pouresmaeil, 2024).

Simptomatologie

Infectarea plantelor cu *A. tumefaciens* se manifestă prin apariția caracteristică a tumorilor sau galeilor la nivelul rădăcinilor, coletului sau tulpinilor (Fig. 31). Inițial tumorile au un aspect moale și succulent, dar pe măsură ce se dezvoltă devin fibroase, variind ca dimensiune de la câțiva milimetri la câțiva centimetri, acestea formând metastaze (tumori secundare) de regulă deasupra tumorii principale. Forma acestor tumori este neregulată și poate afecta creșterea normală a plantei.

La specia prun tumorile de pe rădăcină sunt netede, în timp ce la speciile semănătoare prezintă asperități (Minoiu și Lefter, 1987; Nester și colab., 2005; Butac și colab., 2021). Cancerul bacterian poate să provoace, de asemenea, și epinastia frunzelor, inhibarea mugurilor laterali, rădăcinilor adventive, în anumite condiții poate să genereze teratoame (formațiuni asemănătoare frunzelor, mugurilor, lăstarilor etc.) (Minoiu și Lefter, 1987). Simptomele pot varia în funcție de specia gazdă, vârsta plantei și condițiile de mediu, cum ar fi umiditatea solului și temperatura, care influențează dezvoltarea tumorilor (Stanton, 2018).



Figura 31. Tumori dezvoltate la nivelul coletului și al rădăcinilor ca urmare a infecției cu *Agrobacterium tumefaciens*

(Surse: <https://www.ndsu.edu/agriculture/extension/extension-topics/gardening-and-horticulture/trees-and-shrubs/apple-trees/diagnosing-3>; <https://pnwhandbooks.org/sites/pnwhandbooks/files/plant/images/cherry-prunus-spp-crown-gall/cherry-crowngallajuly1992.jpg>)

Impact economic

A. tumefaciens are un impact economic semnificativ asupra agriculturii și horticulturii, având atât efecte negative, cât și pozitive. Tumorile care se formează la nivelul rădăcinilor, coletului sau tulpinilor împiedică absorbția apei și a nutrienților, ducând la creștere stânenită, scăderea producției și deprecierea calității recoltelor. În cazuri severe, tumorile pot bloca vasele conducătoare, iar plantele afectate suferă un declin accentuat și, în final, pierderea viabilității, ceea ce generează pierderi directe pentru agricultori și costuri suplimentare legate de înlocuirea plantelor infectate (Stanton, 2018).

În horticultură și floricultură, prezența tumorilor afectează aspectul comercial, determinând refuzul vânzării și pierderi economice suplimentare (Minoiu și Lefter, 1987; Nester și colab., 2005). Pe de altă parte, *A. tumefaciens* reprezintă un instrument valoros în biotehnologia vegetală. Capacitatea sa unică de a transfera ADN în plante a revoluționat genetica vegetală, fiind folosită pentru crearea de plante transgenice rezistente la dăunători, boli sau condiții de stres abiotic. Astfel, bacteria contribuie la creșterea productivității agricole și la dezvoltarea de culturi cu valoare comercială

ridicată, generând beneficii economice importante pe termen lung (Stanton, 2018; Azizi-Dargahlou și Pouresmaeil, 2024).

Mod de răspândire

Boala se răspândește prin solul contaminat, răni mecanice sau material săditor infectat, iar tumorile nu conțin spori, ci celulele infectate de bacterie. Observarea atentă a acestor simptome este esențială pentru identificarea timpurie a infecției și luarea măsurilor de control adecvate (Minoiu și Lefter, 1987; Butac și colab., 2021).

Morfologia speciei

A. tumefaciens este o bacterie gram-negativă, mobilă, de formă bacilară (bastonaș), având dimensiuni de aproximativ 0,4–0,8 μm lățime și 1–3 μm lungime. Celulele bacteriene prezintă un flagel polar, care le permite deplasarea activă în sol, mai ales către zonele rănite ale plantei gazdă. Bacteria este gram negativă, non-acidorezistentă, asporogenă și aerobă. Se dezvoltă bine pe medii nutritive cu pH între 4 și 6,5 și crește bine pe medii de cultură la 8–30 $^{\circ}\text{C}$. Pe lângă caracteristicile morfologice de bază, bacteria prezintă și trăsături funcționale corelate cu structura sa. Flagelul polar nu doar permite deplasarea bacteriei în sol, ci facilitează orientarea activă către exsudatele radiculare ale plantelor rănite, esențiale pentru inițierea infecției (Minoiu și Lefter, 1987).

Biologia și ecologia speciei

Din punct de vedere biologic, bacteria este un patogen facultativ, capabilă să supraviețuiască ca bacterie liberă în sol sau colonizând rizosfera (zona de sol din proximitatea rădăcinilor), fără a necesita prezența imediată a unei plante gazdă. Totuși, proliferarea intensă și infecția efectivă au loc doar în prezența unei plante rănite, care secretă exudate radiculare bogate în zaharuri și compuși fenolici, esențiale pentru activarea genelor de virulență (*Vir*) ale bacteriei (Lucas și colab., 1992; Gustavo și colab., 1998; Stanton, 2018).

Măsuri de prevenție și control

Prevenirea infecției cu *A. tumefaciens* este esențială pentru obținerea unui material săditor sănătos și conform din punct de vedere fitosanitar, deoarece bacteria se transmite prin sol contaminat, material de plantare infectat și resturi vegetale, având capacitatea de a persista pe termen lung în sol și în mediul de cultură (Butac și colab., 2021).

Aplicarea unor măsuri preventive riguroase este fundamentală pentru limitarea răspândirii patogenului. Utilizarea exclusivă a materialului săditor Certificat, cu status indemn, reprezintă primul pas pentru a reduce riscul de infecție. Alegerea terenului este, de asemenea, foarte importantă; dacă istoricul acestuia indică prezența bacteriei în trecut, se recomandă intervenția pentru dezinfectarea solului (Minoiu și Lefter, 1987). În astfel de cazuri, se pot utiliza fumigante chimice pe bază de metam sodiu,

metam potasiu sau dezomet (Gerik și Wang, 2008; Chen și colab., 2022; Liu și colab., 2024), în măsura în care legislația permite acest lucru. De asemenea, este esențială sterilizarea uneltelor și a echipamentelor agricole pentru a preveni transferul accidental al bacteriei între plante (Butac și colab., 2021).

Controlul regulat al plantelor privind starea fitosanitară are un rol important în reducerea infecțiilor, iar exemplarele cu simptome trebuie îndepărtate și distruse înainte ca tumora să se dezvolte complet, prevenind astfel contaminarea solului și a materialului săditor. În cazul plantelor care prezintă răni deschise, este recomandat să se intervină pentru acoperirea leziunilor, limitând accesul bacteriei în țesuturile vegetale (Burr și Otten, 1999; Butac și colab., 2021).

5.3.3. *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum*

Genul *Pseudomonas*, cuprinde bacterii larg răspândite în natură, dintre care unele specii sunt patogene pentru plante, animale sau om. Dintre speciile genului prezintă interes pentru pomicultura din România următoarele specii: *P. syringae*, *P. cerasi*, *P. amygdali*, *P. cichorii*, *P. flavescentis*. De departe cele mai păgubitoare sunt patovarurile speciei *P. syringae*: pv. *syringae*, pv. *morsprunorum*, pv. *mori*, pv. *papulans*.

Pseudomonas syringae pv. *morsprunorum* (Wormald, 1931) este agentul etiologic al ulcerării și ciuruirii bacteriene la speciile sâmburoase. În literatura de specialitate din România, acest patovar este menționat ca fiind mai frecvent întâlnit la cireș și prun și mai rar (accidental) la vișin și mirobolan (Severin și Iliescu, 2006).

În România, boala a fost semnalată pentru prima dată în anul 1964, deși era deja cunoscută și descrisă în Anglia încă din 1931 (Minoiu și Lefter, 1987).

Simptomatologie

Bacteria atacă ramurile, tulpina, frunzele și fructele. Pe ramuri și tulpină apar ulceratii deschise, profunde, însoțite de scurgeri gomoase, care prezintă tendința de extindere circulară, determinând necrozarea completă a porțiunilor afectate. Ramurile puternic infestate se ofilesc, iar frunzele se usucă. În plantațiile tinere și în pepiniere, infecțiile pot provoca uscarea completă a plantelor (Minoiu și Lefter, 1987; Butac și colab., 2021).

Simptomele generale ale bolii constau în îngălbenirea frunzelor, acesta fiind adesea primul semn al infecției. Ulterior, boala determină piticirea ramurilor infectate și uscarea acestora împreună cu frunzele, fenomen vizibil mai ales în perioada verii.

Frunzele tinere infectate prezintă inițial puncte mici, gălbui, care evoluează în pete necrotice rotunde, cu diametrul de aproximativ 2–3 mm, înconjurată de o aureolă galben-verzuie și uneori acoperite de un exsudat fin. În timp, țesuturile afectate se desprind, conferind frunzelor un aspect de ciuruire.

La prun, atacul manifestat în timpul verii este cel mai frecvent întâlnit (Fig. 32). Fructele sunt afectate mai rar, simptomele constând în apariția unor pete mici, circulare,

cu suprafață rugoasă. Mugurii infectați primăvara timpuriu se umflă și se ofilesc, iar cei care reușesc să înfrunzească formează frunze mici, clorotice, cu tendință de răsucire și ofilire (Butac și colab., 2021). Un soi de prun sensibil la infecțiile produse de această bacterie este 'Victoria', în timp ce 'President' prezintă un grad ridicat de rezistență (Minoiu și Lefter, 1987).



Figura 32. Simptomele provocate de infecțiile cu *P. syringae* pv. *morsprunorum*

(surse: <https://www.gardeningknowhow.com/edible/fruits/plum/plum-bacterial-canker.htm>; <https://www.researchgate.net/figure/Cross-A-and-longitudinal-B-section-of-a-plum-stem-showing-discolorations-due-to-P-fig2-317011756>)

Impact economic

P. syringae pv. *morsprunorum* este considerat unul dintre cei mai importanți agenți patogeni ai livezilor de sămburoase la nivel mondial. Boala poate determina pierderi semnificative de producție prin reducerea vigoriei pomilor, provocând uscarea ramurilor sau a întregii plante, cu efect negativ asupra cantității de fructe recoltate.

În pepiniere și în plantațiile tinere, infecțiile cu *P. syringae* au fost asociate cu o mortalitate ridicată și necesitatea înlocuirii unui procent mare de pomi, ceea ce determină creșteri ale costurilor de producție și implicit reducerea profitabilității pe termen mediu și lung (Marroni și colab., 2024; Børve și colab., 2025).

Mod de răspândire

Bacteria se răspândește prin sol, apă, răni mecanice și material săditor infectat. Zoosporii și bacteriile aderente pătrund în plante prin tăieturi, răni de insecte sau daune mecanice, iar infecția se poate extinde local prin vasele conducătoare ale pomilor. *P. syringae* are numeroase plante gazdă, cu importanță fiind migdalul (*P. amygdalus*), caisul (*P. armeniaca*), piersicul (*P. persica*) și alte specii din genul *Prunus* (Wenneker și colab., 2012; Marroni și colab., 2024).

Morfologia speciei

Bacteriile *P. syringae* pv. *morsprunorum* (Psm) sunt de tip bastonaș de 0,8-2,5 x 0,3-0,5 μm, gram negative, aerobe și prezintă unul până la trei cili polari. Coloniile bacteriene pe mediu de agar cu 5% glucoză sunt asemănătoare ca aspect cu cele de *P. syringae* pv. *syringae* (Pss). Capsula conține alginat, compus care este toxic pentru plantele gazdă.

Diferențierea acestui patovar față de *P. syringae* pv. *syringae* se face prin faptul că atunci când sunt cultivate *in vitro*, *P. syringae* pv. *morsprunorum* nu produce toxina siringomicină. Bacteria nu produce indol și nu coagulează laptele (Minoiu și Lefter, 1987; Severin și Iliescu, 2006).

Biologia și ecologia speciei

Boala este produsă de un agent patogen bacterian care afectează sămburoasele, provocând ulcerații și ciuruirea frunzelor. Izolatele bacteriene provenite de la prun se diferențiază de cele de la cireș prin specificitatea fagilor. Astfel, fagii care pot infecta bacteriile izolate de la cireș nu infectează, în general, izolatele provenite de la prun, iar această specificitate este reciprocă, sugerând existența unor diferențe între populațiile bacteriene asociate celor două specii pomicole (Mirik și colab., 2015).

Boala prezintă două evoluții, de iarnă caracterizată prin apariția de ulcerații pe tulpină și ramuri, și de vară, când apar simptomele pe frunze prin pătarea, respectiv ciuruirea frunzelor. Bacteria are o rezistență crescută în timp prin ulcerațiile gomoase apărute pe tulpină/ramuri și prin mugurii infectați. Infecțiile în plantă se realizează prin cicatrici sau leziuni deschise și prin stomatele frunzelor în urma precipitațiilor (Minoiu și Lefter, 1987; Mirik și colab., 2015).

P. syringae pv. *morsprunorum* prezintă două rase principale, denumite rasa 1 și rasa 2, care diferă prin virulență și specificitate față de gazde. Rasa 1 afectează în principal prunul, provocând ulcerații și necroze pe ramuri și tulpini, în timp ce rasa 2 este mai agresivă și atacă atât prunul, cât și cireșul, fiind responsabilă pentru pierderi mai mari în livezi și pepiniere (Bultreys și Kaluzna, 2010).

Măsuri de prevenție și control

Controlul cancerului bacterian la pomii fructiferi se bazează în principal pe măsuri culturale și igienice, completate de tratamente chimice preventive. Plantarea materialului săditor sănătos și evitarea introducerii surselor de infecție în pepiniere (prin portaltoi sau ramuri altoi) sau în livezi (prin pomi infectați) reduc riscul de răspândire al acestei bacterii. Ramurile și tulpinile grav afectate trebuie îndepărtate și distruse, iar uneltele utilizate pentru tăieri trebuie dezinfectate pentru a preveni transmiterea mecanică a bacteriei (Minoiu și Lefter, 1987).

Aplicarea tratamentelor chimice preventive, precum soluțiile pe bază de cupru (ex. hidroxid de cupru), pot limita dezvoltarea infecțiilor, mai ales în perioadele de creștere activă a plantelor și după tăieri. Alegerea soiurilor rezistente contribuie suplimentar la reducerea severității bolii (Olson și Jones, 1983; Scheck și Pscheid, 1998; Hussein și Akköprü, 2020).

Combinarea acestor măsuri într-un sistem integrat de management al bolilor (IPM) reprezintă cea mai eficientă strategie pentru obținerea unui material săditor sănătos și a menținerii plantațiilor libere de agenți patogeni bacterieni (Agrios, 2005; Butac și colab., 2021).

5.4. Ciuperci și oomicete

Asigurarea calității biologice și fitosanitare a materialului de înmulțire pomicol presupune o atenție deosebită acordată și bolilor fungice de sol. Patogeni precum *Phytophthora cactorum* și *Verticillium dahliae* pot avea un impact economic devastator, provocând pagube importante prin afectarea sistemului radicular și a țesuturilor vasculare, ceea ce conduce la deprecierea calității materialului de înmulțire și, în consecință, al materialului de plantare.

Persistența acestor agenți patogeni în sol și capacitatea lor ridicată de răspândire reprezintă factori de risc major în producerea materialului săditor. Controlul și limitarea răspândirii lor se realizează în conformitate cu reglementările fitosanitare europene și naționale, prin utilizarea materialului Certificat cu status indemn, aplicarea măsurilor preventive și monitorizarea permanentă a stării fitosanitare a culturilor.

5.4.1. *Phytophthora cactorum*

Phytophthora cactorum cunoscut ca și putregaiul pielos al fructelor și coletului este un patogen de sol din genul *Phytophthora*, clasa Oomicete, organisme asemănătoare cu cele din regnul Fungi (Pánek și colab., 2016; Yang și colab., 2017). Oomicetele sunt considerate „fungi falși” datorită diferențelor anatomice și moleculare, deși unele specii seamănă morfologic cu fungii adevărați. Miceliul oomicetelor este format din hife unicelulare, multinucleate, cu membrana celulară bazată pe celuloză și nucleolele diploide, în timp ce fungii adevărați au hife pluricelulare, celulele mono sau dinucleate, nucleul haploid și membrana celulară bazată pe chitină. *P. cactorum* prezintă cicluri de viață sexuat și asexuat (Erwin și Ribeiro, 1996).

Simptomatologie

Infecțiile cu *P. cactorum* se manifestă prin necrozarea scoarței din zona coletului și a rădăcinilor, ofilirea treptată, clorozarea frunzișului și declinul general al pomului. Necrozarea zonei coletului (Fig. 33) este adesea însoțită de exsudate gomoase, iar scoarța se desprinde ușor, marginile necrozelor fiind brun-roșcate (Butac și colab., 2021). Necrozarea rădăcinilor reduce masa radiculară și poate duce la uscarea pomilor. Simptomele apar mai frecvent după perioade de exces de umiditate și afectează nu doar prunul, ci și alte sâmburoase precum caisul, piersicul și cireșul (Slobounikoff și colab., 2019; Beluzán și colab., 2023).



Figura 33. Necrozarea scoarței din zona coletului cauzată de boală la pomi

(Sursa: <https://treefruit.wsu.edu/crop-protection/disease-management/phytophthora/>)

Impact economic

Boala produsă de *P. cactorum* are o importanță economică majoră cu efecte asupra pomilor (uscarea pomilor, putrezirea coletului), motiv pentru care este importantă monitorizarea ei în cadrul procesului de producere a materialului de înmulțire pomicol. Pomii sunt mai sensibili în primii ani de viață, de aceea este de importanță vitală ca materialul săditor obținut să fie indemn de acest patogen.

Mod de răspândire

P. cactorum este un patogen polifag care infectează un număr mare de specii de plante de cultură printre care și speciile aparținând genului *Prunus*. Studii efectuate în livezi de prun din zona Europei Centrale au demonstrat patogenitatea *P. cactorum* asupra unor portaltoi de prun, cum este St. Julien (Slobounikoff și colab., 2019).

În vederea depistării infecțiilor cu acest patogen se realizează inspectarea vizuală a materialului de înmulțire de mai multe ori pe an, în special după perioade ploioase care ar putea favoriza patogenul. De asemenea, se acordă atenție sporită în spațiile protejate unde menținerea umidității din substrat este asigurată prin irigare, aceasta putând fi un factor favorizant. În cazul în care există simptome care să sugereze o potențială infecție, se va efectua diagnoza în laborator care presupune cultivarea și izolarea pe medii selective și/sau detecția prin metode moleculare (PCR) (Beluzán și colab., 2023).

Morfologia speciei

P. cactorum este un patogen hemibiotrofic care produce sporangii papilate care eliberează zoospori biflagelați în prezența apei libere din sol. Acest patogen formează atât oospori (structuri sexuate) cât și clamidospori (structuri asexuate), ca forme de supraviețuire în sol și în țesuturi. Infecțiile cu acest microorganism sunt favorizate de solurile reci-umede sau cu drenaj deficitar, zoosporii fiind atrași prin chemiotropism

spre rădăcini (Chen și colab., 2023). Prezența rănilor pe rădăcini favorizează intrarea oomicetului în plantă, dar chiar și în absența acestora, *P. cactorum* colonizează inițial cortexul iar apoi cambiul de la nivelul coletului sau al rădăcinilor principale (Pánek și colab., 2016; Yang și colab., 2017; Chen și colab., 2023).

Biologia și ecologia speciei

P. cactorum este un patogen cu cicluri de reproducere sexuale și asexuate. Oosporii și clamidosporii permit supraviețuirea pe termen lung în sol și în țesuturile infectate. Colonizarea gazdei începe în cortex și continuă către cambiul coletului și rădăcinilor principale. Relațiile filogenetice și existența patotipurilor diferite influențează gama de gazde și eficiența infecțiilor (Chen și colab., 2023).

Factorii de mediu au un rol important în dezvoltarea patogenului, fiind favorizată de soluri reci, umede și cu drenaj deficitar, iar umiditatea ridicată în substrat facilitează infecțiile. Adaptabilitatea patogenului este evidențiată de polifagia sa și de existența unor patotipuri diferite, precum și a speciilor înrudite în cadrul genului *Phytophthora*, ceea ce determină gama variată de gazde susceptibile și severitatea infecțiilor (Pánek și colab., 2016; Yang și colab., 2017; Chen și colab., 2023).

Ciclul biologic al *P. cactorum* (Fig. 34) este strâns legat de mediul înconjurător, formele de supraviețuire persistând în sol sau în resturi vegetale până la apariția condițiilor favorabile pentru germinare și activitatea patogenului (Bumbieris și colab., 1983).

Succesul infecției depinde de disponibilitatea gazdei, de umiditatea solului și de temperatura mediului, iar această ecologie explică frecvența infecțiilor în pepiniere, în soluri grele sau slab drenate și după perioade ploioase (Bumbieris și colab., 1983). Capacitatea patogenului de a supraviețui în sol și în țesuturi, combinată cu adaptarea la diferite gazde, îl face un agent persistent și dificil de controlat, justificând măsurile de prevenție și management integrat.

Măsuri de prevenție și control

Din cauza dificultății combaterii bolii se acordă o importanță sporită prevenirii infecțiilor cu *P. cactorum* în cadrul unui management integrat. Câteva dintre măsurile culturale cu rol de a preveni infecțiile provocate de boală, sunt:

- alegerea judicioasă a terenurilor destinate înființării câmpurilor pepinierelor: evitarea microdepresiunilor, plantarea pe rigole/straturi înălțate în zonele cu risc de exces de umiditate, îmbunătățirea texturii solului/substratului și asigurarea drenajului corespunzător în zona coletului (Slobounikoff și colab., 2019);
- utilizarea de material săditor sănătos și portaltoi toleranți, dacă există;
- managementul irigației: evitarea udărilor frecvente și abundente pe soluri grele, prevenirea stagnării apei lângă trunchi.

Măsurile chimice de control constau în tratamente cu produse pe bază de fosetil de aluminiu, dar și alți compuși chimici cum ar fi: dimetomorf, fluopicolide sau propamocarb utilizate alternativ (Ali și colab., 2022). Totuși, literatura de specialitate semnalează apariția unor cazuri de rezistență la metalaxyl în populațiile de *Phytophthora cactorum*, fenomen asociat utilizării repetate a aceleiași substanțe active și nerespectării strategiilor de alternare a fungicidelor cu moduri diferite de acțiune (Ali și colab., 2022).

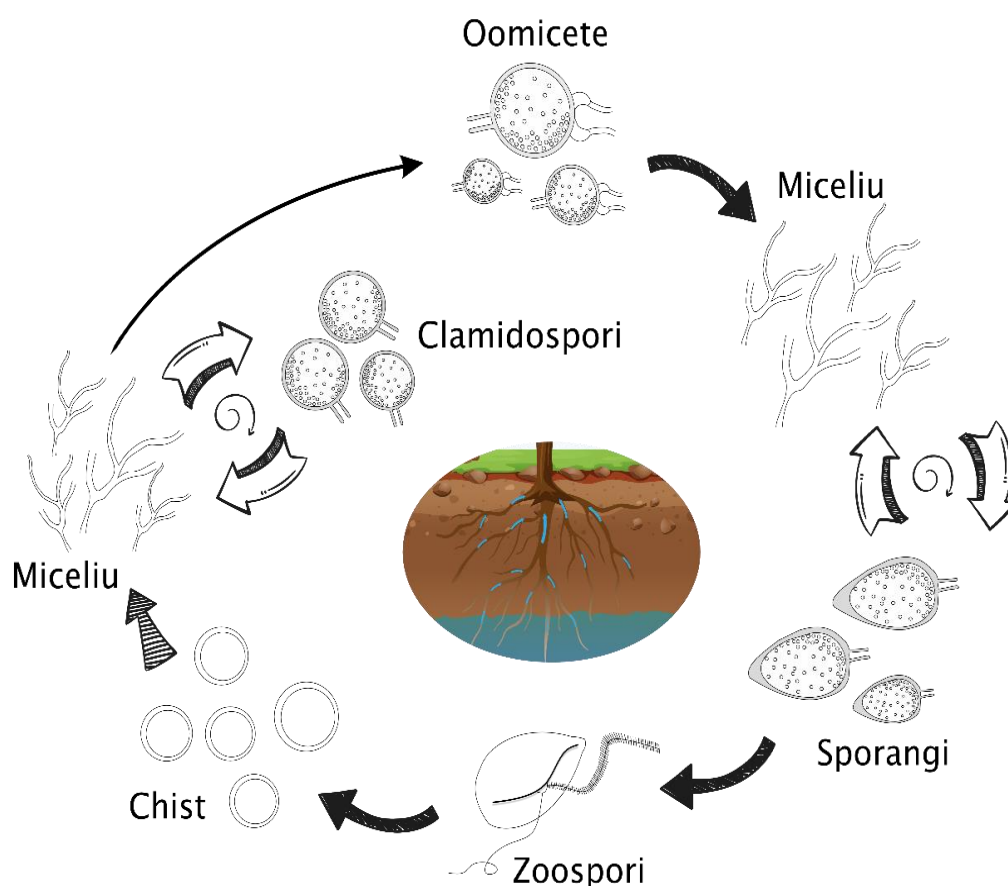


Figura 34. Ciclul biologic al *Phytophthora cactorum*

Metodele biologice de control constau în aplicarea unor produse bazate pe unii agenți bacterieni. Spre exemplu, s-au obținut rezultate promițătoare prin aplicarea bacteriei *Enterobacter aerogenes* în anumite condiții, în ceea ce privește încetinirea evoluției bolii produse de *P. cactorum* (Utkhede și Smith, 1991), dar pentru a putea fi recomandate în practică, necesită aprofundarea cercetărilor în cazul prunului și în condițiile țării noastre.

5.4.2. *Verticillium dahliae*

Verticillium dahliae este o boală vasculară a plantelor care produce ofilirea acestora, prezentă la numeroase plante de cultură și spontane. Este un patogen de sol, cu mod de viață hemibiotrof, aparținând genului *Verticillium*. Boala este cunoscută pentru capacitatea sa de a produce microscleroți melanizați, structuri de rezistență care pot supraviețui în sol 10–15 ani, chiar și în absența plantei-gazdă. Aceștia reprezintă principala formă de persistență și multiplicare a patogenului (Wilhelm, 1955; Klimes și colab., 2015).

Simptomatologie

Primele simptome apar de obicei pe frunzele bazale, care se ofilesc în timpul zilei și își pot reveni noaptea, dar pe măsură ce boala evoluează, ofilirea devine permanentă. Frunzele afectate se îngălbenesc, pot deveni necrozate și uscate și uneori rămân atașate de ramură chiar și după ce se usucă complet (EPPO, 2020b) (Fig. 35). Rareori boala afectează doar o parte a plantei, deoarece ciuperca migrează prin vase spre părțile superioare ale tulpinii sau coroanei (Taylor, 2019).

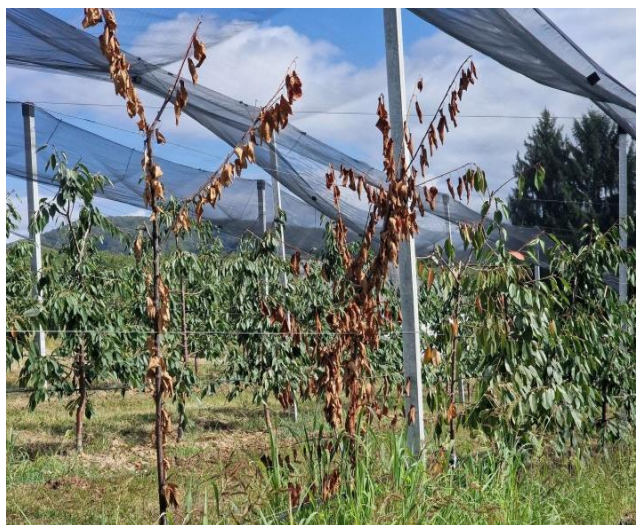


Figura 35. Simptomele provocate de *Verticillium dahliae* la cireș, SCDP Bistrița (2024)

Brunificarea vaselor conducătoare poate fi observată la secționarea tulpinii sau a rădăcinii, indicând traheomicoză produsă de *Verticillium* (Taylor, 2019), aspect observat și la SCDP Bistrița în perioada 2024-2025, într-o plantație tânără de cireș (Fig. 36).

Impact economic

V. dahliae provoacă pierderi semnificative în culturile afectate, deoarece infecțiile duc la ofilirea completă a plantelor. Odată ce boala ajunge în vasele conducătoare, uscarea întregii plante este inevitabilă. De asemenea, patogenul poate supraviețui în sol timp de mai mulți ani, ceea ce face culturile viitoare vulnerabile și amplifică impactul economic al bolii (Keykhasaber și colab., 2018).



Figura 36. Brunificarea vaselor conducătoare produsă de *Verticillium dahliae* la cireș, SCDP Bistrița (2024)

Mod de răspândire

V. dahliae se răspândește prin mai multe căi, principalele fiind solul, materialul săditor infectat și resturile vegetale infectate. Ciuperca persistă în sol sub formă de microscleroții, care pot supraviețui ani de zile în absența gazdei. Infecțiile apar atunci când microscleroții intră în contact cu rădăcinile plantelor, iar agenții patogeni migrează prin vasele conducătoare spre tulpină și frunze (Ingrid și Powelson, 2005).

Boala se poate extinde prin activități agricole, cum ar fi plantarea materialului săditor infectat, irigarea cu apă contaminată sau prin unelte și echipamente care transportă sol contaminat (Keykhasaber și colab., 2018). De asemenea, anumite insecte și nematozi pot contribui la răspândirea locală a patogenului. Factorii de mediu, cum sunt excesul de umiditate, temperaturile moderate (20–25°C) și solurile grele sau slab drenate, favorizează dezvoltarea și dispersia bolii (Keykhasaber și colab., 2018).

Verticillium dahliae este un fung fitopatogen cu un spectru foarte larg de plante gazdă, fiind capabil să infecteze peste 300 de specii, inclusiv culturi agricole importante și plante ornamentale (Bhat și colab., 2003).

Morfologia speciei

Verticillium dahliae este o ciupercă fitopatogenă adevărată, cu un ciclu de viață exclusiv asexuat. Miceliul său este format din hife septate, hialine și ramificate, care colonizează atât mediile nutritive, cât și țesuturile vasculare ale plantelor gazdă. În cultură, miceliul este inițial alb-crem, devenind treptat mai dens și brunificat pe măsură ce se formează microscleroții. Aceste structuri de rezistență melanizate sunt foarte persistente și permit ciupercii să supraviețuiască perioade îndelungate în sol

(Termorshuizen și Walter, 2003). Microscleroții sunt globuloși sau alungiți, cu diametrul de aproximativ 25–100 μm și reprezintă forma principală prin care ciuperca supraviețuiește. Spre deosebire de unele specii înrudite, *V. dahliae* nu produce clamidospori, iar pigmentarea hifelor este asociată în mod direct cu maturarea microscleroților (Termorshuizen și Walter, 2003; Ingrid și Powelson, 2005).

Biologia și ecologia speciei

Ecologia acestei specii este strâns legată de capacitatea de supraviețuire în sol pentru perioade îndelungate. Germinarea microscleroților este stimulată de exsudatele radiculare ale plantelor susceptibile, după care hifele rezultate pătrund în rădăcină și colonizează vasele de xilem (Bhat și colab., 2003).

Procesul patogen implică perturbarea funcționării sistemului vascular al plantei. Dezvoltarea miceliului în vasele conducătoare determină obturarea parțială a vaselor de xilem și reducerea circulației apei și a nutrienților. În condițiile în care transpirația foliară continuă, aportul de apă nu mai poate compensa pierderile prin partea aeriană, ceea ce conduce la apariția stresului hidric și a simptomelor caracteristice, precum ofilirea, cloroza și declinul progresiv al plantelor afectate (Temple și colab., 1973; Daayf, 2015). În paralel, patogenul produce compuși toxici care afectează metabolismul plantei și procesele fiziologice esențiale, inclusiv fotosinteza, amplificând severitatea simptomelor de ofilire și cloroză (Klosterman și colab., 2009; Shaban și colab., 2018). Deși obstrucția vaselor de xilem contribuie la instalarea simptomelor, numeroase studii indică faptul că toxinele produse de patogen au un rol major în evoluția bolii. Aceste substanțe pot induce necroze tisulare și dereglări metabolice severe, conducând în final la uscarea plantelor infectate (Talboys, 1958; Meyer și colab., 1994; Luo și colab., 2014).

Măsuri de prevenție și control

În producerea materialului de înmulțire la prun, prevenirea infestării cu *V. dahliae* este foarte importantă pentru obținerea unor plante indemne. Pentru reducerea riscului de apariție a bolii, se recomandă utilizarea exclusivă a materialului săditor Certificat, indemn, provenit din surse autorizate. De asemenea, se impune monitorizarea periodică a plantelor și intervenția de urgență în caz de suspiciune pentru a preveni răspândirea patogenului. Menținerea unui drenaj corespunzător și aplicarea corectă a lucrărilor agrotehnice contribuie suplimentar la limitarea dezvoltării bolii. Terenurile destinate pepinierelor trebuie alese cu atenție, evitându-se solurile unde au fost cultivate anterior cu specii sensibile (Kowalska, 2021). Înainte de plantare, în cazul în care există un istoric al prezenței agentului patogen în sol, se pot aplica produse fumigante de sol pe bază de metam sodiu, dezomet sau metam potasiu (Middleton și Lawrence, 1993; Taylor și colab., 2005; Pasche și colab., 2014), în conformitate cu reglementările în vigoare privind utilizarea acestor produse.

5.5. Dăunători

Alături de agenții patogeni responsabili de boli, dăunătorii reprezintă o categorie importantă de organisme cu impact asupra sănătății materialului vegetal, a căror monitorizare și control sunt esențiale în procesul de producere a materialului de înmulțire cu status indemn și pentru respectarea cerințelor de certificare.

În cazul speciei prun, precum și al celorlalte specii pomicele, infestările cu dăunători pot influența negativ dezvoltarea plantelor, calitatea biologică a materialului vegetal și conformitatea acestuia cu prevederile legislației europene și naționale. Dintre dăunătorii cu importanță deosebită pentru cultura prunului, păduchele țestos alb al piersicului (*Pseudaulacaspis pentagona*) și păduchele din San José (*Quadraspidotus perniciosus*), sunt supuși monitorizării și controlului fitosanitar în vederea menținerii calității materialului de înmulțire și a respectării cerințelor de certificare.

5.5.1. *Pseudaulacaspis pentagona*

Pseudaulacaspis pentagona, cunoscut popular ca păduchele țestos alb al piersicului este unul dintre cei mai importanți și periculoși dăunători ai speciilor pomicele și ornamentale. Specia este originară din Asia și a fost descrisă pentru prima dată în Italia de Targioni Tozzetti, în 1886. Ulterior s-a răspândit la nivel mondial, fiind prezentă în peste 112 țări și afectând peste 221 de genuri de plante (Morales și colab., 2016; Lu și colab., 2020). În Europa, *P. pentagona* este considerată o amenințare majoră, în special în contextul schimbărilor climatice.

Păduchii țestoși din familia Diaspididae sunt recunoscuți pentru dificultatea controlului, iar *P. pentagona* se numără printre speciile cu cel mai mare spectru de plante gazdă (Malumphy și colab., 2009; Kuzmin și colab., 2020). Hrănirea se realizează prin penetrarea țesuturilor vegetale și injectarea de salivă cu activitate enzimatică în meristem, urmată de absorbția conținutului celular degradat, ceea ce slăbește puternic plantele, reduce productivitatea și poate provoca uscarea totală a pomilor (Lu și colab., 2020).

Specia se caracterizează printr-un grad ridicat de polifagie, afectând în mod deosebit plante din familia Rosaceae, cu o sensibilitate crescută a speciilor sâmburoase, precum piersicul, caisul, cireșul, prunul și migdalul, dar și numeroase alte specii pomicele și ornamentale (Hank și Denno, 1993; Toorani și colab., 2019).

Simptomatologie

Simptomele atacului (Fig. 37) sunt adesea evidente și includ apariția unor cruste dense, albicioase, care acoperă scoarța și conferă un aspect de ramuri vâruite, creștere slabă, frunze îngălbenite, uscarea treptată a lăstarilor și, în cazuri severe, moartea întregii plante, în special la pomii tineri (Branscome, 1999).



Figura 37. Infestări provocate de *Pseudaulacaspis pentagona* pe diferite părți ale plantei, evidențiind acumularea de insecte și deteriorarea țesuturilor vegetale
(Sursa: planthealthportal.defra.gov.uk/assets/factsheets/Defra-Factsheet-Pseudaulacaspis-pentagonaV3.pdf)

Impact economic

Pagubele economice cauzate de *P. pentagona* sunt considerabile, specia fiind inclusă printre cele mai periculoase 43 de specii de păduchi țestoși (Diaspididae) la nivel mondial. În livezile comerciale, infestările pot conduce la reduceri severe ale producției, deprecierea calității fructelor și, în lipsa unor măsuri de combatere eficiente aplicate la timp, la compromiterea sau pierderea totală a plantațiilor (Liebregts și colab., 1989; Ülgentürk și Çanakçioğlu, 2004).

Mod de răspândire

Răspândirea interstatală a speciei este favorizată în principal de comerțul cu material săditor, dar și de transportul fructelor care pot purta dăunătorul, inclusiv în condiții de depozitare frigorifică. La nivel local, nimfele pot fi transportate de vânt, păsări sau chiar unelte horticole utilizate la o plantă infestată (Stannard, 2019).

Schimbările climatice indică o posibilă extindere a arealului speciei în Europa Centrală și de Nord, cu un risc maxim estimat pentru perioada 2050–2070, când unele regiuni anterior nefavorabile ar putea deveni adecvate dezvoltării acestui dăunător (Lu și colab., 2020).

Morfologia speciei

Reproducerea speciei este intensă, femelele depunând, în general, cca 100 de ouă, dispuse în lanțuri caracteristice. Un aspect interesant este că ouăle au culori diferite în funcție de sex: cele destinate să devină femele sunt galbene sau roz, iar cele masculine sunt albicioase (Bennett și Brown, 1958; Davidson și Miller, 2005).

Nimfele proaspăt eclozate se deplasează pe plante în primele ore de viață în căutarea unui loc potrivit de fixare, motiv pentru care infestările se pot extinde rapid chiar și în câteva zile (Fig. 38a). De asemenea, acestea sunt atrase de lumină, ceea ce explică de ce infestările pornesc adesea de la baza tulpinii și urcă progresiv spre ramurile superioare (Bennett și Brown, 1958; Davidson și Miller, 2005).

Specia se remarcă printr-un grad ridicat de adaptabilitate, femelele adulte fiind fixate permanent pe scoarța sau ramurile plantelor gazdă, unde își formează un scut protector rotunjit, convex, cu diametrul de 2-2,5 mm, alcătuit din exuvii (reminiscențe ale năpârlirilor anterioare) și ceară secretată, având de obicei o culoare alb-gălbuie (Fig. 38b). Sub acest scut, corpul femelei este moale, galben sau rozaliu, culoare care se intensifică în perioada de depunere a ouălor (Van Duyn și Murphey, 1971; Davidson și Miller, 2005). Masculii sunt mult mai mici ($\approx 0,7$ mm), prevăzuți cu o singură pereche de aripi și cu un scut delicat, rolul lor fiind exclusiv de reproducere (Fig. 38c). Scutul masculin este mic, alb-gălbui, uneori ușor păros și trăiesc în medie doar 24 de ore după ultimul stadiu nimfal (Van Duyn și Murphey, 1971; Branscome, 1999).

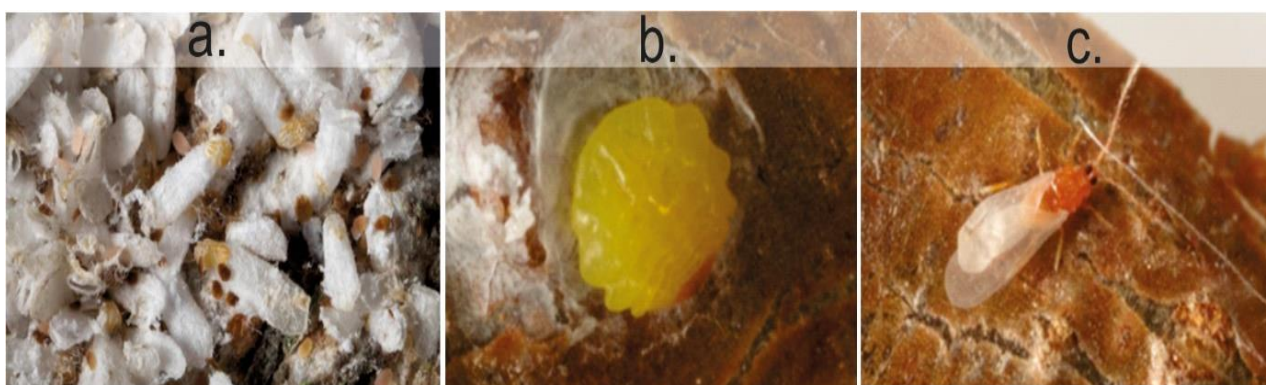


Figura 38. Stadiile dezvoltării dăunătorului *Pseudaulacaspis pentagona*:
(a) prima formă a larvelor, (b) femela adultă sclerotizată, (c) masculul adult
(Sursa: planthealthportal.defra.gov.uk/assets/factsheets/Defra-Factsheet-Pseudaulacaspis-pentagonaV3.pdf)

Biologia și ecologia speciei

Ciclul de viață al speciei este puternic influențat de temperatură, ceea ce explică atât răspândirea sa accelerată, cât și persistența în diferite ecosisteme. La temperaturi ridicate, în jur de 25°C, dezvoltarea completă durează puțin peste o lună, în timp ce la temperaturi scăzute, în jurul a 13°C, ciclul se poate prelungi până la aproximativ trei luni (Davidson și Miller, 2005).

Specia poate produce între două și patru generații anual, iar ultima generație a anului intră în diapauză ca femelă adultă cu ouă parțial dezvoltate, urmând ca dezvoltarea să se reia odată cu creșterea temperaturilor primăvara (Kozarzevskaja și Mihajlovic, 1983).

Ciclul de dezvoltare cuprinde următoarele etape: oul, care eclozează în 50–80 de ore; nimfa mobilă, care caută locul optim de fixare timp de 12–48 de ore; prima năpârlire, când începe formarea scutului; a doua năpârlire la femele sau trei năpârliri la masculi; apoi stadiul adult, în care femela se fixează definitiv, iar masculul zboară pentru împerechere (Fig. 39). Fecundația are loc în corpul femelei, care depune ulterior ouăle în lanțuri de câte 7–8 (Bennett și Brown, 1958; Davidson și Miller, 2005).

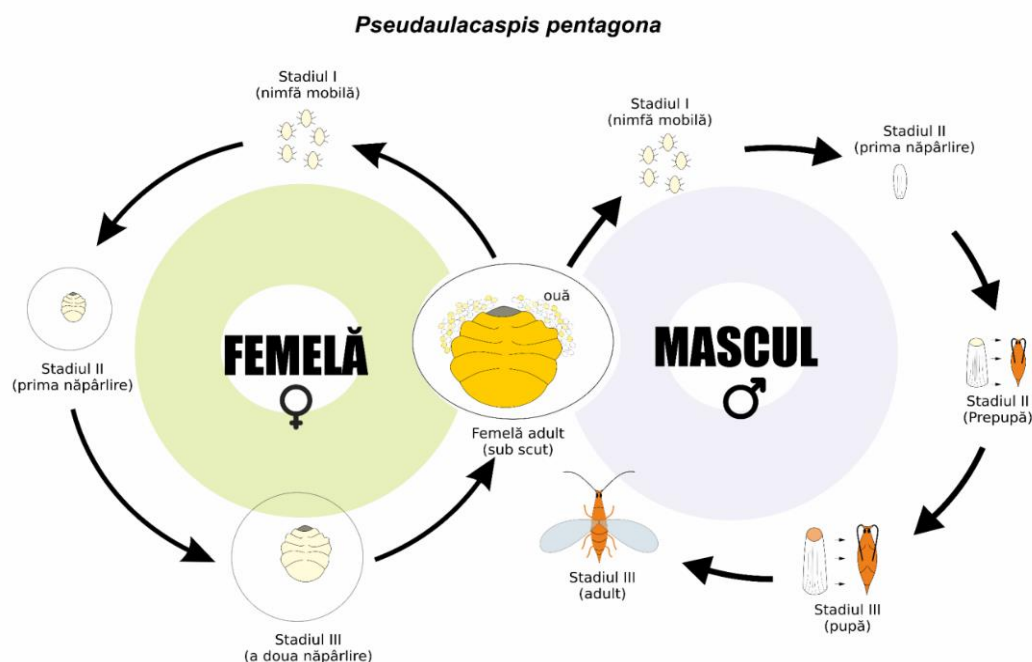


Figura 39. Stadiile de dezvoltare ale dăunătorului *Pseudaulacaspis pentagona*

Măsuri de prevenție și control

Prevenția se bazează pe aplicarea riguroasă a măsurilor de igienă culturală, inclusiv inspectarea atentă a materialului de înmulțire și utilizarea soiurilor mai puțin susceptibile, dacă acestea sunt disponibile. Pe tot parcursul procesului de obținere a materialului de înmulțire fructifer, inspecțiile repetate sunt esențiale în menținerea unui status fitosanitar liber de *P. pentagona*.

În plantații, monitorizarea populațiilor se realizează prin capcane lipicioase galbene și urmărirea vârfurilor de eclozare (Kaneko și colab., 2006). Odată ce infestarea este identificată, măsurile de combatere trebuie inițiate prompt pentru a limita răspândirea și pierderile economice. Combaterea mecanică presupune răzuirea scuturilor și tăierea ramurilor afectate (Pickart, 2011).

Pentru reducerea atacului provocat de dăunător, tratamentele fitosanitare trebuie adaptate stadiului de dezvoltare al insectei. Aplicarea timpurie, încă de primăvara devreme, înainte ca plantele să intre în vegetație, reduce rezerva dăunătorului. În această perioadă se recomandă utilizarea uleiurilor horticoale pe bază de parafină, care provoacă sufocarea insectelor. Acest tratament este printre cele mai eficiente, reducând drastic populația dăunătorului, fiind prietenos cu mediul și acceptat în agricultura ecologică (Cranshaw și Baxendale, 2005; Nile și colab., 2019).

Combaterea chimică rămâne eficientă în principal asupra stadiilor mobile, scutul adult fiind aproape impenetrabil. De aceea, sincronizarea aplicării tratamentelor cu perioada de ecloziune este esențială pentru eficiența intervențiilor. Se recomandă aplicarea de produse de sinteză chimică pe bază de acetamiprid sau deltametrin (Van Duyn și Murphey, 1971; Davidson și Miller, 2005).

5.5.2. *Quadraspidiotus perniciosus*

Păduchele din San José (*Quadraspidiotus perniciosus*) este considerat unul dintre cei mai periculoși dăunători ai speciilor pomicole, remarcându-se prin plasticitatea ecologică ridicată și prin pagubele importante pe care le produce în plantațiile de pomi fructiferi (Butac și colab., 2021).

Răspândire

Specia este originară din China, de unde s-a răspândit la sfârșitul secolului al XIX-lea în America de Nord, iar ulterior în Europa și Africa (Marlatt, 1902; 1906; 1953; Minoiu și Lefter, 1987). Din punct de vedere sistematic, aparține familiei Diaspididae, un grup recunoscut pentru dificultatea combaterii speciilor sale. *Quadraspidiotus perniciosus* este un dăunător polifag, atacând peste 200 specii de plante, fiind întâlnit frecvent la numeroase specii semănțoase și sămburoase precum și la plante forestiere și ornamentale (Nodirjonovich și colab., 2020).

Simptomatologie

Atacul se concentrează în special pe organele lemnoase ale pomilor (trunchi, ramuri de schelet și lăstari anuali), unde insectele se fixează și își introduc rostrul în țesuturi, extrăgând seva. Hrănirea continuă determină perturbarea funcțiilor fiziologice și slăbirea progresivă a pomilor. Deși poate fi întâlnit și pe frunze și fructe, dăunătorul preferă în mod evident zonele lemnoase, care oferă condiții favorabile dezvoltării și multiplicării populațiilor (Fig. 40).

Pe fructe, coloniile se localizează mai ales în regiunile pedunculară și calicială, iar în jurul punctelor de înțepare apar pete roșiatice circulare, sub formă de aureole caracteristice (Minoiu și Lefter, 1987; Butac și colab., 2021). Aceste leziuni afectează aspectul comercial, împiedică dezvoltarea normală a fructelor și conduc la deprecierea calitativă și cantitativă a producției.



Figura 40. Infestări provocate de *Quadraspidiotus perniciosus* pe diferite părți ale plantei (original)

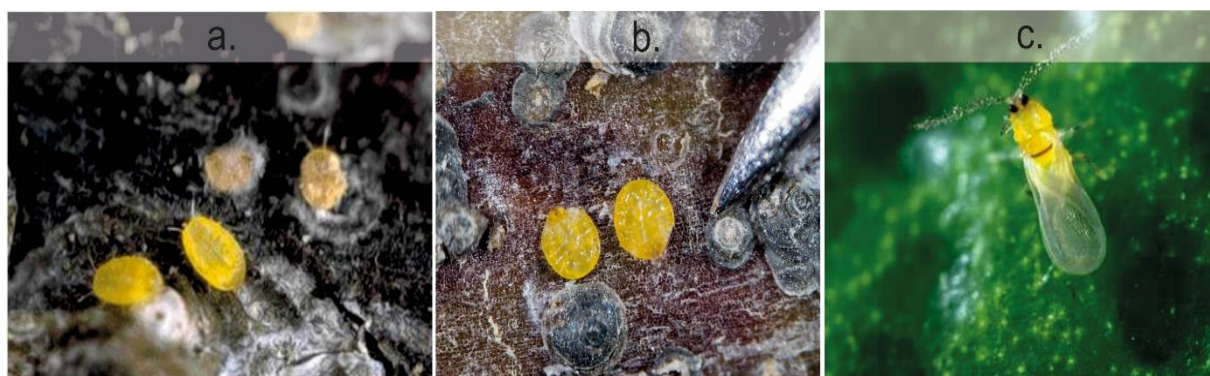
Infestările puternice au efecte severe asupra longevității și productivității pomilor. Puieții și pomii tineri pot fi distruși în decurs de 2–3 ani, iar la exemplarele adulte se observă o degradare lentă, dar continuă a stării fiziologice. Frunzișul devine rar și clorotic, ramurile se degarnesc, creșterile vegetative se reduc, iar producția scade semnificativ. În situații extreme, procesul de uscare începe la vârful ramurilor și progresează spre bază, putând conduce în final la compromiterea întregului pom (Minoiu și Lefter, 1987).

Morfologia speciei

Femela adultă are un scut circular, convex, lipit strâns de scoarța pomilor, de culoare gri-deschis spre gri-închis sau brun-negru. Centrul scutului prezintă un punct negru proeminent, corespunzător corpului insectei. Sub scut, corpul femelei este moale și alb-gălbui, de 0,9-0,12 mm x 1 mm, protejat de un strat ceros dur la exterior. Femela este sedentară și nu se deplasează, rămânând fixată pe ramuri sau pe fructe. Aparatul bucal este dezvoltat și reprezentat printr-un rostru subțire și lung de aproximativ 1,5-1,8 mm (Minoiu și Lefter, 1987; Alston și colab., 2011). Tegumentul femelei adult este dur și ceros, oferindu-i protecție împotriva factorilor externi și pesticidelor.

Ciclu de viață este hemimetabol, trecând prin stadiile de ou, larvă, nimfa și adult (Fig. 41). Femela poate trăi mai mulți ani pe pom, iar infestarea masivă poate reduce vigoarea pomilor și chiar provoca moartea acestora. Aspectul caracteristic, cu scutul gri și punctul negru central, ajută la identificarea rapidă a dăunătorului.

Femela depune ouă sub scut, iar nimfele tinere, sunt mobile și colonizează ramurile și fructele (Minoiu și Lefter, 1987). Masculul adult este mai mic, măsurând aproximativ 0,8-0,9 mm, corp fusiform și prezintă aripi, fiind mobil pentru fecundarea femelelor. Scutul său este mic și mai puțin vizibil, iar culoarea albicioasă contrastează cu femela mai închisă. Aparatul bucal este rudimentar sau absent (Minoiu și Lefter, 1987; Alston și colab., 2011).



**Figura 41. Stadiile dezvoltării dăunătorului *Quadraspidiotus perniciosus*:
(a) nimfe tinere, (b) femelă adult, (c) masculul adult**

(Sursa: <https://ipm.ucanr.edu/PMG/Q/I-HO-QPER-AD.021.html#gsc.tab=0>,
http://eagri.org/eagri50/ENTO331/lecture20/apple_002.html
<https://fff.hort.purdue.edu/article/san-jose-scale/>)

Biologia și ecologia speciei

Ciclul biologic al păduchelui din San José include, de regulă, două generații pe an în zonele temperate și până la trei în regiunile mai calde. Dăunătorul iernează ca larvă sub scut pe scoarța trunchiului și a ramurilor. Larvele nou eclozate sunt singurele stadii mobile și migrează pentru a coloniza organe noi ale pomului; acestea rămân active timp de 1–2 zile, în funcție de condițiile meteorologice (Butac și colab., 2021). Femela poate depune câteva mii de ouă într-un singur sezon, permițând astfel populațiilor să atingă rapid densități ridicate (Fig. 42).

Larvele hibernante constituie rezerva biologică pentru sezonul următor și reprezintă ținta principală a tratamentelor aplicate în perioada de repaus vegetativ. Zborul masculilor este eșalonat pe o perioadă de 28–32 de zile, interval în care are loc împerecherea cu femelele adulte, imobile (Minoiu și Lefter, 1987; Alston și colab., 2011).

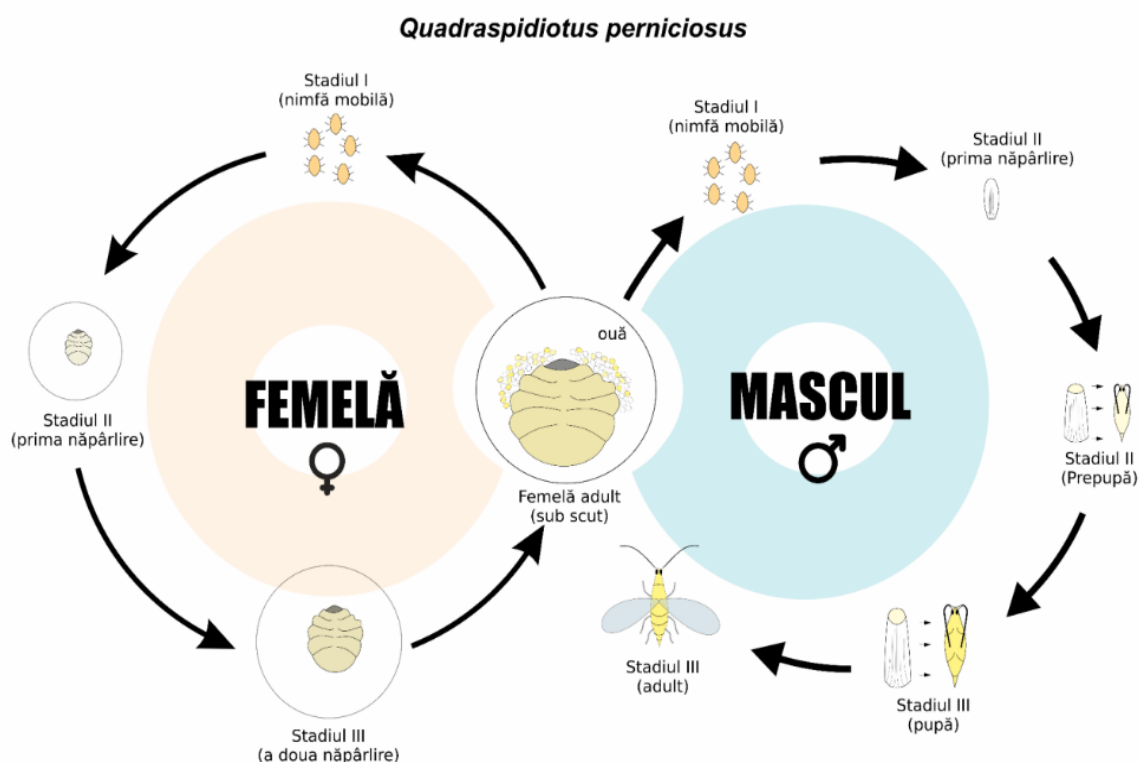


Figura 42. Stadiile de dezvoltare ale dăunătorului *Quadraspidiotus perniciosus*

Dăunătorul preferă părțile lemnoase ale pomilor, unde se hrănește cu seva și se multiplică intens, provocând slăbirea treptată a pomilor, degarnisirea ramurilor, frunziș clorotic și reducerea producției. Fructele atacate prezintă pete roșii circulare, se micșorează și își pierde valoarea comercială. În cazuri severe, infestările pot conduce la moartea pomilor tineri în 2–3 ani și la degradarea treptată a pomilor maturi (Minoiu și Lefter, 1987).

Măsuri de prevenție și control

Monitorizarea fitosanitară a materialului de înmulțire presupune inspecții periodice și intervenții prompte în caz de infestare. Combaterea păduchelui din San José se realizează printr-o strategie integrată care combină intervenții în perioada de repaus vegetativ cu tratamente aplicate pe parcursul sezonului de vegetație. La sfârșitul repausului, se efectuează tratamente menite să distrugă larvele hibernante și să reducă rezervele biologice ale populațiilor, prin aplicarea de tratamente cu uleiuri horticole parafinice. În timpul vegetației, momentul optim de intervenție pentru fiecare generație îl reprezintă debutul migrației larvelor mobile de sub scutul protector. Se aplică tratamente pe bază de acetamiprid sau deltametrin.

În zonele temperate, prima generație (G1) apare în luna iunie, iar cea de-a doua generație (G2) în luna august. Pentru a crește eficiența, tratamentul inițial se repetă după aproximativ 10 zile, pentru a elimina larvele care eclozează eşalonat. Aplicarea consecventă a acestor măsuri, combinată cu monitorizarea constantă a populațiilor, ajută la menținerea infestărilor sub pragul economic și la protejarea sănătății plantelor. Totuși, *Quadraspidotus perniciosus* rămâne un dăunător agresiv, iar respectarea riguroasă a momentelor optime de tratament este esențială pentru controlul eficient (Butac și colab., 2021).

5.6. Nematodi

Nematozii fitoparaziți sunt larg răspândiți la nivel global și constituie una dintre principalele cauze ale pierderilor economice în agricultură, afectând majoritatea culturilor și generând pierderi economice globale semnificative (Khan, 2023). Din punct de vedere fitosanitar, nematozii fitoparaziți de interes pentru pomicultură pot fi abordați în două categorii principale: nematozi care produc daune directe prin parazitarea sistemului radicular și nematozi vectori, care contribuie la răspândirea unor virusuri fitopatogene în plantații.

Certificarea materialului de înmulțire din categoriile biologice superioare, cu status indemn, la specia prun, presupune inspecția prealabilă a cinci specii de nematozi: *Meloidogyne areniana*, *M. incognita*, *M. javanica*, *Pratylenchus penetrans* și *P. vulnus*, endoparaziți cu impact direct asupra rădăcinilor plantelor și responsabili de pierderi semnificative de productivitate la nivel mondial.

Nematozi endoparaziți

Nematozii endoparaziți își desfășoară ciclul de viață parțial sau total în interiorul țesuturilor radiculare, unde se hrănesc cu ajutorul stiletului, perforând celulele și injectând secreții enzimatică cu rol în modificarea metabolismului și fiziologiei celulelor gazdă (Howland și Quintanilla, 2023). Extracția conținutului celular determină distrugerii tisulare, dereglări ale absorbției apei și nutrienților și slăbirea generală a

plantei, ceea ce conduce la diminuarea rezistenței la iernare la plantele perene și creșterea susceptibilității la infecții secundare.

Nematozii cu nodozități radiculare (*Meloidogyne* spp.) colonizează rădăcinile plantelor și afectează funcționarea țesuturilor conducătoare, reducând absorbția apei și a nutrienților. Infestarea se manifestă prin formarea de nodozități și hipertrofii radiculare, însoțite de cloroză, ofilire și încetinirea creșterii aparatului vegetativ.

Speciile din genul *Meloidogyne* atacă un spectru larg de plante, inclusiv pomii fructiferi, iar controlul lor se bazează în principal pe utilizarea nematocidelor chimice sau a produselor biologice cu spectru larg de acțiune (Tapia și colab., 2022). Dintre nematocidele chimice eficiente se remarcă fluopyram, oxamyl, fosthiazate și abamectin, active atât împotriva *Meloidogyne* spp., cât și a *Pratylenchus* spp. Alternativele biologice includ *Bacillus firmus*, *Purpureocillium lilacinum* și extracte din *Tagetes erecta*, utilizate în special în agricultura ecologică (Baidoo și colab., 2017; Azlay și colab., 2023; Sharma și colab., 2025). În pepiniere, tratamentele pot fi aplicate prin fertirigare, primăvara, când temperaturile solului favorizează activitatea nematozilor (Butac și colab., 2021; Talavera-Rubia și colab., 2022). Wesemael și colab. (2011) indică faptul că *M. incognita*, *M. arenaria* și *M. javanica* sunt cele mai răspândite specii de nematozi, în special în sudul Europei și în sistemele de cultură protejate din regiunile nordice și pot determina pierderi economice semnificative prin diminuarea producției și a calității produselor (Kiewnick și colab., 2011).

Speciile de *Pratylenchus* sunt nematozi endoparaziți migratori cu un potențial impact economic ridicat, având un spectru larg de plante-gazdă și capacitate ridicată de a provoca leziuni severe ale rădăcinilor (Mani și colab., 1997), afectând semnificativ dezvoltarea pomilor după plantare (King și colab., 2024). Daunele sunt adesea subestimate din cauza simptomelor nespecifice și a dimensiunilor reduse ale nematozilor, însă impactul lor este amplificat prin interacțiunea cu alți patogeni de sol și prin rolul lor de vectori (Khan, 2023).

Nematozii din genurile *Meloidogyne* și *Pratylenchus* rămân dăunători importanți, dar nu sunt implicați în transmiterea virusurilor.

Nematozi vectori ai virusurilor

Legislația actuală privind certificarea materialului de înmulțire fructifer nu impune testarea solului pentru nematozi vectori de virusuri, însă prezența acestora este relevantă pentru practica pomicolă și pentru sănătatea viitoarelor plantații. Transmiterea virusurilor prin nematozi este specifică altor specii de nematozi, celor din genurile *Xiphinema*, *Longidorus* și *Trichodorus*, care se hrănesc din exteriorul rădăcinilor, introducându-și stiletul în țesuturile radiculare pentru a extrage conținutul celular. Deși nu pătrund complet în rădăcină, produc leziuni importante și au un rol major ca vectori pentru virusuri vegetale, în special nepovirusuri. Bolile virotice transmise prin nematozi se caracterizează, de regulă, printr-o evoluție lentă, cu manifestări care apar la intervale mari de timp după instalarea infecției. Această

evoluție reflectă distribuția neuniformă a vectorilor în sol și persistența acestora de la o cultură la alta, pe aceeași suprafață. Din acest motiv, la înființarea noilor livezi este esențială evaluarea istoricului fitosanitar al terenurilor, în special în ceea ce privește prezența nematozilor vectori ai virusurilor fitopatogene.

Epidemiologia virusurilor transmise prin nematozi se bazează pe interacțiunea a trei componente esențiale: agentul viral, planta gazdă și vectorul. Impactul economic al bolilor asociate este variabil și depinde atât de particularitățile biologice ale virusului, cât și de sensibilitatea speciei gazdă (Martelli și Uymoto, 2011). Mai mult, toate virusurile transmise de nematozi pot fi, de asemenea, transmise prin polen și semințe, atât la plantele cultivate, cât și la plantele gazdă (Pop, 2009). Un rol epidemiologic semnificativ îl au buruienile, care pot constitui surse de menținere a populațiilor de nematozi vectori și pot contribui la conservarea inoculului viral în plantațiile pomicole.

La speciile pomicole sâmburoase, *Xiphinema diversicaudatum* este considerată vector pentru *Nepovirus arabis* și *Stralativirus fragariae* iar *Xiphinema americanum* pentru *Nepovirus lycopersici*. Nematozii din genul *Longidorus* pot transmite *Nepovirus rubi* și *Nepovirus nigranuli* (Pop, 2009; Martelli și Uyemoto, 2011). Există, de asemenea, virusuri pentru care vectorii nu sunt încă identificați, cum este cazul *Nepovirus cerasiferae*, aspect care complică evaluarea riscului epidemiologic și aplicarea măsurilor de control. Virusurile transmise de nematozi rămân frecvent limitate la rădăcini sau se deplasează lent către părțile aeriene, ceea ce face dificilă detectarea lor prin metode de transmitere mecanică. În aceste situații, sursa de inocul este reprezentată de țesuturile radiculare ale plantelor. Metoda este utilă atât pentru demonstrarea transmiterii prin nematozi, cât și pentru identificarea unor virusuri implicate în boli complexe, inclusiv în cazul unor specii pomicole, cum sunt cele din genul *Prunus*, unde a fost evidențiat *Nepovirus lycopersici* (Nemeth, 1986).

Simptomele bolilor produse de virusurile transmise prin nematozi apar, de obicei, primăvara și sunt, în general, nespecifice. Având în vedere suprapunerea simptomelor produse de diferiți agenți virali, stabilirea diagnosticului etiologic necesită aplicarea testelor serologice și/sau moleculare, completate de analize de sol pentru identificarea nematozilor vectori caracteristici.

*

Pomii infectați cu virusuri și fitoplasme nu pot fi recuperați din punct de vedere fitosanitar în câmp, ceea ce conferă prevenției un rol central în managementul acestor boli. Astfel că, utilizarea materialului săditor 'Certificat', cu status fitosanitar indemn, selectarea soiurilor și a portaltoilor care prezintă rezistență sau toleranță la anumite virusuri, efectuarea analizelor de sol înainte de plantare și aplicarea măsurilor culturale de dezinfectie și dezinsecție a terenului reprezintă condiții indispensabile pentru reducerea riscurilor. În lipsa acestor măsuri, înființarea unei plantații pomicole, având în vedere perioada lungă de exploatare, se asociază cu riscuri fitosanitare semnificative.

6. Sistem integrat de obținere, menținere și certificare a materialului de înmulțire și plantare cu status indemn la specia prun

În condițiile în care în România nu există centre specializate de premultiplicare comparabile cu cele dezvoltate în alte state europene, cercetarea pomicolă a preluat un rol esențial în organizarea și dezvoltarea sistemului național de producere a materialului de înmulțire.

Stațiunea de Cercetare-Dezvoltare pentru Pomicultură (SCDP) Bistrița s-a implicat activ în acest proces prin inițierea cercetărilor de virusologie pomicolă și elaborarea primelor scheme de obținere a materialului liber de virusuri (Minoiu, 1973b; Maxim și colab., 2003; Zagrai L. și colab., 2025b).

Prin certificarea materialului din categoriile biologice superioare, modernizarea infrastructurii și adaptarea continuă la cerințele legislative, SCDP Bistrița a contribuit la consolidarea sistemului național de certificare. Astfel, în perioada 2010–2013, au fost certificate la categoria PREBAZĂ, cu status virus-free, 21 de soiuri și un portaltol de prun, majoritatea de origine românească. Ulterior, procesul de certificare a fost extins la măr, cireș și vișin, iar în anul 2015 a fost înființată o plantație-mamă BAZĂ protejată împotriva vectorilor (Zagrai I. și colab., 2013; Zagrai L. și colab., 2013).

La nivel național, plantațiile-mamă de ramuri altoi la prun, cu status indemn, conforme noilor reglementări, sunt aproape inexistente, mai ales în cazul soiurilor autohtone. Această lipsă limitează producerea materialului săditor din categoria 'Certificat'. În acest context, România trebuie să refacă întregul lanț de obținere și menținere a materialului de înmulțire, în acord cu cerințele legislative actuale. Procesul presupune facilități de izolare pentru materialul Prebază-Candidat și Prebază, protejate de vectori, precum și laboratoare capabile să aplice metode moderne de diagnostic și devirozare. Aceste condiții sunt asigurate de Stațiunea de Cercetare-Dezvoltare pentru Pomicultură Bistrița și de Institutul de Cercetare-Dezvoltare pentru Pomicultură Pitești-Mărăcineni.

Modificările legislative recente au impus adaptarea sistemului, iar în perioada 2022–2023 au fost certificate primele soiuri de prun la categoria PREBAZĂ, cu status indemn, conform noii legislații în domeniu, la SCDP Bistrița. Ulterior, finanțarea de către MADR a proiectului ADER 6.3.4./2023 a permis implementarea unui sistem integrat de obținere, menținere și certificare a materialului de înmulțire din categoriile biologice superioare – PREBAZĂ, BAZĂ și CERTIFICAT – și de plantare 'Certificat', cu status indemn, la specia prun. Mai mult, în cadrul proiectului au fost implementate tehnici de devirozare a materialului infectat prin termo/-chimio/-terapie *in vitro*, precum și tehnici de conservare *in vitro* a materialului PREBAZĂ, etape esențiale pentru consolidarea unui sistem integrat de producere a materialului de înmulțire și plantare la specia prun.

6.1. Selecția genotipurilor de interes la specia prun

Selecția soiurilor în procesul de obținere și menținere a materialului de înmulțire din categoriile biologice superioare, conform legislației actuale, a avut la bază valoarea lor agronomică demonstrată în timp, în special calitatea fructelor și productivitatea, toleranța la unele boli și adaptabilitatea la condițiile pedoclimatice locale.

Soiurile selectate provin, în principal, din programele de ameliorare ale principalelor unități de cercetare pomicolă din România. Astfel, de la SCDP Bistrița au fost selectate soiurile Dani, Delia, Doina, Elena, Geta, Iulia, Ivan, Jubileu 50, Matilda, Romaner, Zamfira; de la ICDP Pitești-Mărăcineni, soiurile Gras Ameliorat, Diana, Pescăruș, Silvia, Tita, Agent, Flora, Carpatin și Minerva; de la SCDP Vâlcea, soiul Andreea, iar de la SCDP Voinești, soiul Tuleu dulce.

Colecția a fost completată cu soiuri de origine străină, consacrate la nivel internațional pentru productivitate, calitatea fructelor și adaptabilitate. Dintre acestea au fost selectate șase cel mai frecvent cultivate în România, și anume: Anna Späth, Blue Free, d'Agen, President, Reine Claude d'Althan și Stanley.

Soiuri de prun selectate pentru introducerea în procesul de obținere a materialului de înmulțire din categoriile biologice superioare, conform noii legislații, la SCDP Bistrița

Creații ale SCDP Bistrița

DANI

Origine: Tuleu Gras x Grase românești

Autori: N. Minoiu, I. Zagrai, R. Balaci,
D. Vlădianu

Anul omologării: 2004

Fruct: de mărime mijlocie (28-30 g)

Epoca de înflorire: târzie

Soi androsteril

Epoca de maturare: ultima decadă a lunii
august

Destinat: consumului în stare proaspătă și
deshidratării



DELIA

Origine: Vânăț de Italia x Anna Späth
Autori: I. Ivan, R. Balaci, N. Minoiu
Anul omologării: 2002
Fruct: mărime mijlocie (28-30 g)
Epoca de înflorire: timpurie
Soi parțial autofertil
Epoca de maturare: prima decadă a lunii septembrie
Destinat: consumului în stare proaspătă și deshidratării



DOINA

Origine: Anna Späth x Renclod Althan
Autorii: N. Minoiu, D. Vlădianu, I. Platon, R. Balaci, I. Zagrai
Anul omologării: 2004
Fruct: de mărime mare (45-50 g)
Epoca de înflorire: semitimpurie
Soi autosteril
Epoca de maturare: prima decadă a lunii august
Destinat: consumului în stare proaspătă și deshidratare



ELENA

Origine: Tuleu gras x Stanley
Autori: N. Minoiu, I. Zagrai, D. Vlădianu, I. Platon, R. Balaci, I. Ivan
Anul omologării: 2005
Fruct: de mărime mijlocie spre mare (38-42 g)
Epoca de înflorire: mijlocie
Soi androsteril
Epoca de maturare: prima decadă a lunii septembrie
Destinat: consumului în stare proaspătă și deshidratării



GETA

Origine: Centenar x Ialomița
Autori: N. Minoiu, D. Vlădianu, I. Platon,
I. Zagrai, R. Balaci
Anul omologării: 2004
Fruct: de mărime mare (51-59 g)
Epoca de înflorire: semintimpurie
Soi androsteril
Epoca de maturare: ultima decadă a
lunii iulie și prima decadă a lunii august
Destinat: consumului în stare proaspătă



IULIA

Origine: Tuleu gras x Renclod Althan
Autori: I. Ivan, R. Balaci, N. Minoiu
Anul omologării: 2002
Fruct: mărime mijlocie (38-39 g)
Epoca de înflorire: mijlocie
Soi androsteril
Epoca de maturare: la sfârșitul lunii
august
Destinat: consumului în stare proaspătă



IVAN

Origine: Tuleu gras x Vânăț de Italia
Autori: I. Ivan, R. Balaci, N. Minoiu,
I. Zagrai
Anul omologării: 2003
Fruct: mărime mijlocie (36 g)
Epoca de înflorire: semintimpurie
Soi androsteril
Epoca de maturare: prima decadă a
lunii august
Destinat: consumului în stare proaspătă



JUBILEU 50

Origine: Tuleu gras x De Bistrița
Autori: I. Ivan, R. Balaci, N. Minoiu
Anul omologării: 2003
Fruct: de mărime mijlocie (35 g)
Epoca de înflorire: semitimpurie
Soi androsteril
Epoca de maturare: ultima decadă a lunii august
Destinat: consumului în stare proaspătă și deshidratării



MATILDA

Origine: Anna Späth x d'Agen
Autori: N. Minoiu, I. Platon, D. Vlădianu, R. Balaci, I. Zagrai
Anul omologării: 2004
Fruct: de mărime mijlocie (30 g)
Epoca de înflorire: semitimpurie
Soi autofertil
Epoca de maturare: ultima decadă a lunii septembrie
Destinat: consumului în stare proaspătă și deshidratării



ROMANER

Origine: Tuleu gras x Renclod Althan
Autori: R. Roman, V. Cociu, S. Budan, I. Zagrai, M. Butac
Anul omologării: 2005
Fruct: de mărime mare (45 g)
Epoca de înflorire: mijlocie
Soi androsteril
Epoca de maturare: prima decadă a lunii august
Destinat: consumului în stare proaspătă



ZAMFIRA

Origine: Anna Späth x Renclod Althan
Autori: N. Minoiu, I. Zagrai
Anul omologării: 2005
Fruct: de mărime mare (45 g)
Epoca de înflorire: mijlocie
Soi parțial autofertil
Epoca de maturare: prima decadă a lunii septembrie
Destinat: consumului în stare proaspătă și industrializări



**Descrierea soiurilor conform www.scdp-bistrita.ro*

Creații ale ICDP Pitești-Mărăcineni

AGENT

Origine: selecție individuală a unei populații de puieți rezultați din polenizare liberă
Autori: I. Duțu, Cr. Mazilu, S. Ancu
Anul omologării: 2004
Fruct: de mărime mijlocie (30 g)
Epoca de înflorire: mijlocie
Soi parțial autofertil
Epoca de maturare: sfârșitul lunii august
Destinat: deshidratării



CARPATIN

Origine: Tuleu gras x Early Rivers
Autori: V. Cociu, R. Roman
Anul omologării: 1981
Fruct de mărime mare (50 g)
Epoca de înflorire: mijlocie
Soi androsteril
Epoca de maturare: sfârșitul lunii iulie, începutul lunii august
Destinat: consumului în stare proaspătă



CENTENAR

Origine: Tuleu gras x Early Rivers
Autori: V. Cociu, E. Bumbac
Anul omologării: 1978
Fruct: de mărime mijlocie (45 g)
Epoca de înflorire: relativ timpurie
Soi androsteril
Epoca de maturare: sfârșitul lunii iulie
Destinat consumului în stare proaspătă



DIANA

Origine: Renclod Althan x Early Rivers
Autori: V. Cociu
Anul omologării: 1981
Fruct: de mărime mare (60 g)
Epoca de înflorire: mijlocie
Soi autofertil
Epoca de maturare: începutul lunii iulie
Destinat: consumului în stare proaspătă



FLORA

Origine: Tuleu gras x Renclod violet
Autorii: V. Cociu
Anul omologării: 1989
Fruct: de mărime mare (55 g)
Epoca de înflorire: mijlocie
Soi androsteril
Epoca de maturare: mijlocul lunii august
Destinat: consumului în stare proaspătă



GRAS AMELIORAT

Origine: autopolenizarea soiului Grase românești
Autori: V. Cociu
Anul omologării: 1968
Fruct: de mărime mijlocie (45 g)
Epoca de înflorire: mijlocie
Soi autofertil
Epoca de maturare: finalul lunii august, prima jumătate a lunii septembrie
Destinație de consum: mixtă



MINERVA

Origine: Tuleu timpuriu x Early Rivers
Autori: V. Cociu, E. Bumbac, R. Roman, N. Minoiu
Anul omologării: 1984
Fruct: de mărime mijlocie (40 g)
Epoca de înflorire: târzie
Soi androsteril
Epoca de maturare: sfârșitul lunii iulie, începutul lunii august
Destinat: consumului în stare proaspătă



PESCĂRUȘ

Origine: Renclod Althan x Wilhelmina Späth
Autori: V. Cociu, R. Roman
Anul omologării: 1979
Fruct de mărime mijlocie (45 g)
Epoca de înflorire: târzie
Soi autosteril
Epoca de maturare: sfârșitul lunii august
Destinat: consumului în stare proaspătă



SILVIA

Origine: Renclod Althan x Early Rivers
Autori: V. Cociu, N. Minoiu
Anul omologării: 1978
Fruct: de mărime mare (55 g)
Epoca de înflorire: mijlocie
Soi parțial autofertil
Epoca de maturare: sfârșitul lunii iulie, începutul lunii august
Destinat: consumului în stare proaspătă



TITA

Origine: iradierea sâmburilor de prun
Tuleu gras (proveniți din polenizare liberă)
Autori: V. Cociu, E. Bumbac, R. Roman, D. Stroe
Anul omologării: 1991
Fruct: de mărime mare (50 g)
Epoca de înflorire: mijlocie
Soi androsteril
Epoca de maturare: sfârșitul lunii iulie-începutul lunii august
Destinat: consumului în stare proaspătă



Creație a SCDP Vâlcea

ANDREEA

Origine: polenizare liberă a H27/87
Autori: I. Botu, M. Botu, E. Turcu
Anul omologării: 2000
Fruct: de mărime mijlocie (40 g)
Epoca de înflorire: mijlocie
Soi parțial autofertil
Epoca de maturare: decada a treia a lunii august
Destinat: consumului în stare proaspătă și industrializării



Creație a SCDP Voinești TULEU DULCE

Origine: Tuleu gras x d'Agen
Autori: C. Rădulescu
Anul omologării: 1968
Fruct: de mărime mijlocie (30 g)
Epoca de înflorire: mijlocie
Soi androsteril
Epoca de maturare: sfârșitul lunii august
Destinat industrializării



**Descrierea soiurilor mai sus menționate conform Pomologiei României, nr. IX (Ștefan și colab., 2018), www.scdp-bistrita.ro și www.icdp.ro*

Soiuri de prun de origine străină certificate ca material de înmulțire Prebază la SCDP Bistrița

ANNA SPÄTH

Proveniență: Germania
Fruct: de mărime mare sau foarte mare (60g)
Epoca de înflorire: târzie
Soi parțial autofertil
Epoca de maturare: mijlocul lunii septembrie - începutul lunii octombrie
Destinat: consumului în stare proaspătă



BLUE FREE

Proveniență: S.U.A.

Fruct de mărime mare (50 g)

Epoca de înflorire: mijlocie spre târzie

Soi autofertil

Epoca de maturare: luna septembrie

Destinat: consumului în stare proaspătă



d'AGEN

Proveniență: Franța

Fruct de mărime mică spre medie (30 g)

Epoca de înflorire: mijlocie spre târzie

Soi parțial autofertil

Epoca de maturare: sfârșitul lunii august

Destinat: consumului în stare proaspătă și industrializare



PRESIDENT

Proveniență: Anglia

Fruct de mărime medie spre mare
(55-77 g)

Epoca de înflorire: medie

Soi autosteril

Epoca de maturare: târzie spre foarte târzie

Destinat: consumului în stare proaspătă



REINE CLAUDE d'ALTHAN

Proveniență: Republica Cehă

Fruct de marime mare (40-50 g)

Epoca de înflorire: târzie

Soi parțial autofertil

Epoca de maturare: a doua jumătate a lunii august

Destinat: consumului în stare proaspătă



STANLEY

Proveniență: S.U.A.

Fruct de mărime mijlocie (30-40 g)

Epoca de înflorire: mijlocie

Soi autofertil

Epoca de maturare: a treia decadă a lunii august - sfârșitul lunii septembrie

Destinat: consumului în stare proaspătă



**Descrierea soiurilor conform Pomologiei Republicii Socialiste Române, nr. IV (Bordeianu și colab., 1965) și Pomologiei Republicii Socialiste Române, nr. VIII (Bordeianu și colab., 1969), Descrierea soiurilor conform Pomologiei României, nr. IX (Ștefan și colab., 2018),*

www.scdp-bistrita.ro și www.icdp.ro

*

Prin acest efort constant, SCDP Bistrița își subliniază rolul esențial în pomicultura românească, asigurând ramuri altoi de calitate superioară, protejând patrimoniul genetic și contribuind la dezvoltarea durabilă a sectorului pomicol românesc.

6.2. Obținerea materialului de înmulțire din categoriile biologice superioare, cu status indemn, la specia prun

După intrarea în vigoare a noii legislații, la SCDP Bistrița au fost inițiate, într-o primă etapă, activități destinate obținerii de material de înmulțire din categoria biologică PREBAZĂ cu status indemn. Punctul de pornire al construcției piramidei etajate de înmulțire și producere a materialului săditor la specia prun l-au constituit 29 de soiuri și un portaltol de prun (St. Julien). Dintre cele 29 de soiuri de prun, 23 sunt autohtone, respectiv 11 creații ale SCDP Bistrița (Dani, Delia, Doina, Elena, Geta, Iulia, Ivan, Jubileu 50, Matilda, Romaner, Zamfira), 10 creații ale ICDP Pitești-Mărăcineni (Agent, Carpatin, Centenar, Flora, Gras ameliorat, Minerva, Diana, Pescăruș, Silvia, Tita), un soi creat la SCDP Voinești (Tuleu dulce) și un alt soi creat la SCDP Vâlcea (Andreea). Aceștia li s-au adăugat șase soiuri de origine străină binecunoscute și solicitate de fermieri (Anna Späth, Blue free, d'Agen, President, Reine Claude d'Althaus, Stanley).

Pe baza acestui material biologic au fost demarate activitățile pentru obținerea, într-o primă fază, a **materialului Prebază-Candidat** (Fig. 43), reprezentând etapa preliminară pentru obținerea materialului Prebază.



Figura 43. Material Prebază-Candidat, 29 soiuri și 1 portaltol de prun (SCDP Bistrița)

În vederea evaluării conformității fitosanitare și a încadrării în categoria biologică vizată, plantele Prebază-Candidat au fost supuse unui program complex de testare și monitorizare.

Diagnosticul fitovirotic la specia *P. domestica* L. a vizat șase virusuri: PPV, PDV, PNRSV, ACLSV, ApMV și MLRSV, realizat prin tehnici serologice (DAS-ELISA), precum și fitoplasma *Candidatus Phytoplasma prunorum*, detectată prin testul molecular nested-PCR. Totodată, plantele Prebază-Candidat au fost supuse inspecțiilor vizuale periodice și testate pe indicatori lemnoși (*P. persica* GF 305) (Fig. 44).

În prima parte a perioadei de vegetație din anul următor (mai-iunie), atât plantele Prebază-Candidat, cât și plantele-indicator, inoculate cu muguri proveniți din materialul Prebază-Candidat, au fost supuse testării serologice prin DAS-ELISA.



Figura 44. Testarea plantelor Prebază-Candidat pe indicatori lemnoși de *P. persica* GF 305 în spații protejate de vectori

Pentru diagnosticul PPV, PDV, PNRSV, ACLSV și ApMV au fost utilizate antiseruri produse de Bioreba (Elveția), iar pentru diagnosticul MLRSV antiseruri produse de Sediag (Franța), în vederea confirmării statusului indemn virotic al materialului de înmulțire (Tab. 4).

Tabelul 4

**Situația fitovirotică a materialului Prebază-Candidat la specia prun
(biodepozitarele de la SCDP Bistrița)**

Soi / poziție pom	DAS-ELISA							Nested- PCR	Status fitoviral
	PPV	PDV	PNRSV	ACLSV	ApMV	MLRSV	Indica- tori bio- logici	Ca. P. pruno- rum	
President 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Blue free 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Anna Spath 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Dani 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Delia 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Doina 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Elena 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Geta 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Iulia 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Ivan 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Jubileu 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Matilda 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Romaner 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Zamfira 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Andreea 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Centenar 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Carpatin 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Flora 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Gras amel. 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Stanley 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn

Agent 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
D'Agén 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Rc. Althan 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Minerva 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
St. Julien 1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	indemn
PPV+	+						+		
PPV -	-						-		
PDV +		+					+		
PDV -		-					-		
PNRSV +			+				+		
PNRSV -			-				-		
ACLSV +				+			+		
ACLSV -				-			-		
ApMV +					+		+		
ApMV -					-		-		
MLRSV +						+	+		
MLRSV -						-	-		

De asemenea, plantele Prebază-Candidat au fost monitorizate și din punct de vedere fitosanitar la bolile și dăunătorii specifici speciei *Prunus domestica* L. menționați în noua legislație, și anume: *Phytophthora cactorum*, *Verticillium dahliae*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum*, *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, *Pseudaulacaspis pentagona* și *Quadraspidiotus perniciosus* (Tab. 5).

Tabelul 5

**Situația fitosanitară a materialului Prebază-Candidat la specia prun
(biodepozitarele de la SCDP Bistrița)
Simptome produse de agenții patogeni și dăunători**

Soi / poziție pom	<i>Phytophthora cactorum</i>	<i>Verticillium dahliae</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>morsprunorum</i>	<i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>pruni</i>	<i>Pseudaulacaspis pentagona</i>	<i>Quadraspidiotus perniciosus</i>	Status fito- sanitar
President 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Blue free 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Anna Spath 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Dani 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Delia 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Doina 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Elena 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Geta 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Iulia 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Ivan 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Jubileu 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Matilda 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Romaner 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Zamfira 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn

Andreea 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Centenar 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Carpatin 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Flora 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Gras amel. 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Stanley 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Agent 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
D'Agen 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Rc. Althan 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
Minerva 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn
St. Julien 1-3	-	-	-	-	-	-	-	indemn

Mai mult, din ghivecele în care au fost/sunt cultivate plantele au fost prelevate și trimise probe de sol la Laboratorul Național Fitosanitar (ANF), în vederea stabilirii prezenței sau absenței celor opt specii de nematozi specificate în legislația în vigoare pentru specia prun. Astfel, solul care constituie suport pentru plantele Prebază-Candidat din biodepozitare a fost verificat, iar în urma analizelor de laborator s-a emis un pașaport fitosanitar prin care se specifică ca nu s-a depistat niciuna dintre speciile de nematozi specifici speciei prun, și anume: *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita*, *M. javanica*, *Pratylenus penetrans*, *P. vulnus*, *Longidorus tenuatus*, *L. elongatus* și *Xiphinema diversicaudatum*.

În urma inspecțiilor vizuale și a testărilor de laborator (prin tehnici serologice/moleculare și metode biologice), plantele Prebază-Candidat care s-au dovedit a fi indemne de agenții patogeni și dăunători specifici prunului, conform noii legislații, au fost promovate și certificate de către ITCSMS Cluj-Napoca, ca **material de înmulțire PREBAZĂ indemn** (Fig. 45).



Figura 45. Material de înmulțire din categoria biologică PREBAZĂ cu status indemn la specia prun (29 soiuri) - SCDP Bistrița

Astfel, la SCDP Bistrița există în acest moment material de înmulțire din categoria PREBAZĂ, conform noii legislații, la 29 soiuri de prun (5 soiuri certificate în 2022 și 24 soiuri certificate în 2023), precum și la un portaltui de prun. Acest vast material de înmulțire din categoria PREBAZĂ a fost utilizat la obținerea de material de înmulțire BAZĂ/CERTIFICAT.

Materialul PREBAZĂ indemn a fost folosit ca precursor în obținerea de **material de înmulțire BAZĂ indemn** (Fig. 46), la 16 soiuri de prun (Agent, Andreea, Iulia, Tita, Anna Spăth, Carpatin, Centenar, d'Agen, Gras ameliorat, Pescăruș, Stanley, Doina, Elena, Matilda, President și Blue free) altoite pe portaltuiul Mirobolan 29C, categoria BAZĂ.



Figura 46. Material BAZĂ cu status indemn la specia prun, Câmpul II (SCDP Bistrița)

Din cele 16 soiuri de prun BAZĂ, 14 au fost folosite la înființarea unei plantații mamă BAZĂ indemn, în câmp deschis. Acesta cuprinde câte cinci pomi din soiurile Agent, Andreea, Iulia, Anna Spăth, Carpatin, Centenar, d'Agen, Gras ameliorat, Stanley, Doina, Elena, Matilda, President și Blue free (Fig. 47). În conformitate cu noua legislație, această plantație mamă reprezintă o sursă importantă de aprovizionare cu ramuri altoi pentru pepinieriști, în vederea producerii pe scară largă de material de plantare din categoria biologică 'Certificat'.



Figura 47. Plantație mamă de ramuri altoi, specia prun, categoria BAZĂ, cu status indemn, înființată la SCDP Bistrița în primăvara anului 2026

Odată obținut materialul de înmulțire PREBAZĂ și BAZĂ, cu status indemn, la specia prun, acesta a fost folosit ca precursor pentru obținerea de **material de plantare 'Certificat'**. Din paleta de 29 de soiuri de prun incluse în program au fost selectate patru soiuri reprezentative, respectiv două creații românești (Iulia și Tita) și două soiuri străine larg utilizate în cultură (Anna Späth și Stanley) pentru parcurgerea etapei finale de producere a materialului de plantare 'Certificat' cu status indemn. Materialul obținut finalizează astfel întregul lanț piramidal de multiplicare și certificare prevăzut de noua legislație, demonstrând funcționalitatea la SCDP Bistrița a unui sistem integrat de producere a materialului de înmulțire și plantare cu status indemn.

6.3. Conservarea materialului de înmulțire Prebază indemn la specia prun

Conservarea materialului de înmulțire PREBAZĂ indemn reprezintă o etapă esențială în menținerea resurselor genetice valoroase și în asigurarea producerii de material săditor 'Certificat', sănătos din punct de vedere fitosanitar. Această activitate are un rol major atât în păstrarea autenticității biologice și genetice a soiurilor, cât și în prevenirea răspândirii agenților patogeni sistemici, în special a virusurilor și fitoplasmelor. În cadrul Stațiunii de Cercetare-Dezvoltare pentru Pomicultură Bistrița, conservarea materialului PREBAZĂ indemn se realizează prin metode complementare, respectiv conservare *ex situ* în biodepozitare și conservare *in vitro*. Aceste sisteme permit păstrarea pe termen lung a genotipurilor valoroase, monitorizarea permanentă a statusului fitosanitar și regenerarea materialului biologic în condiții controlate.

6.3.1. Conservarea *ex situ* în biodepozitare

În biodepozitarele SCDP Bistrița este conservat *ex situ* material biologic PREBAZĂ, cu status indemn, aparținând unui număr de 29 de soiuri de prun, dintre care 23 sunt soiuri românești. Colecția conservată include genotipuri cu valoare agronomică și genetică ridicată, utilizate atât în programele de multiplicare a materialului de înmulțire, cât și în activitatea de cercetare, în special în programele de ameliorare.

Conservarea *ex situ* în biodepozitare oferă condiții controlate pentru menținerea identității varietale și a stării fitosanitare a materialului biologic. Plantele sunt prezervate în condiții care reduc riscul contaminărilor naturale și permit supravegherea permanentă a stării de sănătate (Fig. 48).

Periodic, conform legislației în vigoare și schemelor de certificare aplicabile materialului de înmulțire pomicol, se efectuează inspecții vizuale pentru depistarea simptomelor produse de boli și dăunători, precum și testări serologice și moleculare pentru verificarea statusului fitosanitar. Aceste analize urmăresc confirmarea absenței principalilor agenți patogeni reglementați și menținerea statusului inițial indemn al materialului PREBAZĂ.



Figura 48. Conservarea *ex situ* în biodepozitarele SCDP Bistrița a materialului de înmulțire din categoria biologică PREBAZĂ cu status indemn la specia prun

Activitățile de monitorizare a agenților patogeni specifici prunului sunt însoțite de operațiuni de întreținere a plantelor, respectiv tăieri la cep în perioada de repaus vegetativ (Fig. 49), tratamente fitosanitare (Tab. 6), menținerea solului din ghivece curat de buruieni etc., operațiuni desfășurate pe tot parcursul perioadei de vegetație, atunci când situația o impune.



Figura 49. Operațiuni de tăiere la cep a plantelor PREBAZĂ din biodepozitare în perioada de repaus vegetativ

Tabelul 6

Tratamentele fitosanitare orientative pentru controlul bolilor și dăunătorilor în biodepozitare

Nr. trat.	Perioada (decada/luna)	Substanța activă	Conc.
1	II/3	Cupru metalic din hidroxid de cupru, 50%	0,2%
		Ulei de parafină 800 g/l	1,5%
2	I/4	Piraclostrobin, 6,7% + Boscalid, 26,7%	0,05%
		Lambda – Cihalotrin, 50 g/l	0,02%
3	II/4	Difenoconazol, 250 g/l	0,02%
		Acetamiprid, 20%	0,02%
4	I/5	Captan, 800 g/kg	0,2%
		Lambda – Cihalotrin, 50 g/l	0,02%
5	III/5	Difenoconazol, 250 g/l	0,02%
		Acetamiprid, 20%	0,02 %
6	II/6	Folpet, 80%	0,2 %
		Fludioxonil 250 g/kg + Ciprodinil 375 g/kg	0,1%
		Lambda – Cihalotrin, 50 g/l	0,02%
		Hexitiazox, 10%	0,01%
7	III/6	Difenoconazol, 250 g/l	0,02%
		Acetamiprid, 20%	0,02%
		Hexitiazox, 10%	0,01%
8	II/7	Folpet, 80%	0,2 %
		Lambda – Cihalotrin, 50 g/l	0,02%
9	I/8	Difenoconazol, 250 g/l	0,02%
		Cupru metalic din hidroxid de cupru, 50%	0,2%
		Hexitiazox, 10%	0,01%
10	III/8	Folpet, 80%	0,2 %
		Acetamiprid, 20%	0,02%

Notă: *Concentrațiile din tabel sunt calculate raportat la un volum de 1000 L apă/ha

Prin conservarea în biodepozitare a materialului PREBAZĂ se asigură continuitatea biologică a soiurilor valoroase de prun și disponibilitatea unui material sănătos pentru verigile de înmulțire din aval, necesare producerii de material de plantare din categoria 'Certificat' și, implicit, dezvoltării unei pomiculturi durabile.

6.3.2. Conservarea *in vitro*

Conservarea *in vitro* reprezintă o metodă modernă și eficientă de menținere a materialului biologic PREBAZĂ în condiții aseptice, controlate, cu risc minim de contaminare cu agenți patogeni. Această metodă completează sistemul de conservare *ex situ* și contribuie la păstrarea pe termen lung a resurselor genetice valoroase de prun. Pentru conservarea acestui material genetic valoros, unic la nivel național, au fost implementate și metode alternative moderne de conservare *in vitro*. În acest scop, s-a inițiat microînmulțirea *in vitro* a materialului PREBAZĂ provenit din soiurile de prun menținute în biodepozitare, utilizând tehnici de cultură de țesuturi, urmată de conservarea acestuia *in vitro*.

Tehnica culturilor de țesuturi *in vitro* este o metodă alternativă și rapidă de înmulțire vegetativă, cu aplicații în special în multiplicarea, dar și în conservarea materialului vegetal pe termen scurt, mediu și lung a germoplasmei vegetale, menținând, în același timp, integritatea genetică a acesteia. Această abordare este esențială pentru protejarea diversității genetice a soiurilor valoroase de prun, atât autohtone, cât și străine, din categoriile biologice superioare, asigurând disponibilitatea acestor resurse genetice.

6.3.2.1. Conservarea *in vitro* pe termen scurt

Un pas esențial, premurgător conservării *in vitro* este elaborarea și optimizarea unor protocoale eficiente de microînmulțire, capabile să asigure obținerea de plante viguroase, juvenile, adecvate pentru menținerea în stadiul de culturi *in vitro* și conservarea materialului vegetal pe termen scurt. În acest scop, tehnicile de culturi de țesuturi au fost aplicate pentru microînmulțirea și, ulterior, conservarea a 29 soiuri de prun din categoria biologică PREBAZĂ, cu status indemn, dintre care 23 de soiuri românești (Agent, Andreea, Carpatin, Centenar, Dani, Delia, Diana, Doina, Elena, Flora, Geta, Gras ameliorat, Ivan, Iulia, Jubileu 50, Matilda, Minerva, Pescăruș, Romaner, Silvia, Tita, Tuleu dulce și Zamfira) și a șase de origine străină (Anna Späth, Blue Free, d'Agen, President, Reine Claude d'Althaus și Stanley).

Tehnica de microînmulțire, premurgătoare conservării *in vitro*, implică mai multe etape esențiale, începând cu selecția, prelevarea, sterilizarea și dezinfectarea ramurilor, urmate de inițierea și multiplicarea *in vitro* a plantulelor. În fiecare etapă a procesului de micropropagare *in vitro* s-au stabilit compoziții specifice ale mediilor de cultură și s-au asigurat condiții optime de mediu. După selecția și prelevarea celor 29 de soiuri de prun menținute în spații protejate de vectori (biodepozitare), în perioada de repaus vegetativ – iarna, sau în perioada de creștere activă – primăvara, a urmat sterilizarea și dezinfectarea materialului vegetal.

Etapă de inițiere a constat în excizarea explantelor (apexuri caulinare apicale și adventive) (Fig. 50) și inocularea acestora pe medii de cultură specifice, suplimentate cu substanțe nutritive, vitamine și fitohormoni. Explantele celor 29 de soiuri de prun din categoria biologică PREBAZĂ au fost inoculate individual în eprubete pe medii nutritive de cultură destinate inițierii culturilor *in vitro*.

Culturile vegetale, în cadrul etapelor de inițiere și multiplicare, au fost incubate într-o cameră de creștere vegetativă iar plantulele inițiate au fost urmărite pe parcursul a 30 de zile.

În urma analizei parametrilor din etapa de inițiere, respectiv rata de inițiere și lungimea medie a lăstarilor, cele 29 de soiuri de prun au fost clasificate în două categorii, și anume: 19 soiuri cu potențial superior (Anna Späth, Andreea, Blue Free, Carpatin, Centenar, Delia, Diana, Doina, Elena, Geta, Gras ameliorat, Matilda, Minerva, Pescăruș, Romaner, Silvia, Tita, Tuleu dulce și Zamfira) și 10 soiuri cu potențial moderat sau

inferior de inițiere (Agent, d'Agen, Dani, Flora, Ivan, Iulia, Jubileu 50, President, Reine Claude d'Althan și Stanley) (Strîmbu și colab., 2025).

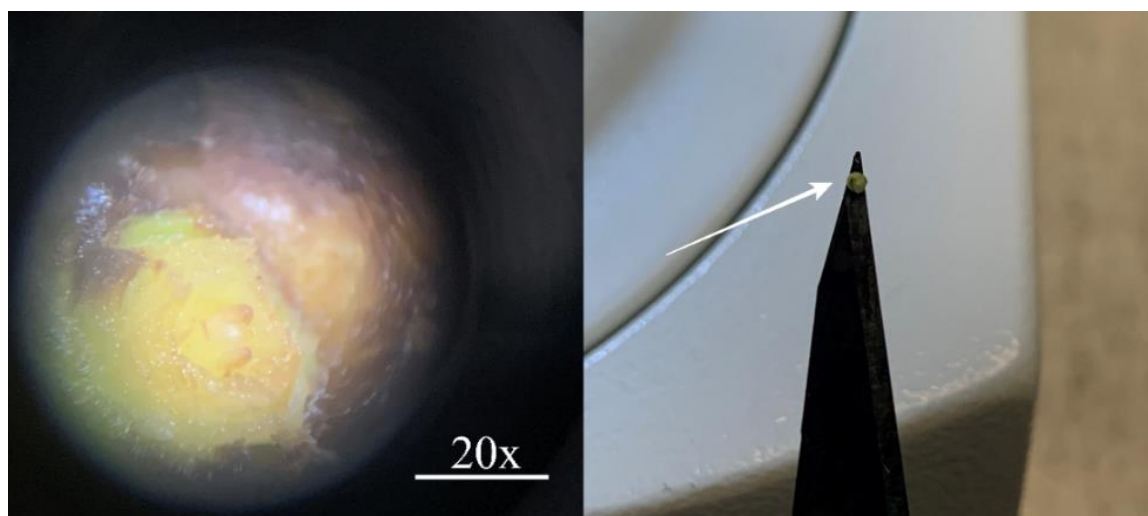


Figura 50. Excizarea explantelor de tip apex caulinar în cadrul etapei de inițiere
(stânga – detaliu apex la stereomicroscop, dreapta – apex excizat pe lama bisturiului)

În *etapa de multiplicare*, plantulele sunt înmulțite în progresie geometrică prin subculturi succesive pe diferite variante de medii de cultură care au în componență substanțe nutritive, vitamine și fitohormoni (citochinine, gibereline). Plantulele cu potențial superior de inițiere rezultate în etapa anterioară, s-au multiplicat și transferat pe două medii de cultură, suplimentate cu diferite substanțe nutritive în patru variante de cultură, în vederea optimizării procesului de multiplicare. În această etapă, lăstarii de prun au prezentat o dezvoltare optimă după 30 de zile, evidențiind variabilitatea morfologică atât între soiuri, cât și între variante de cultură (Fig. 51). La 30 de zile de la inițierea multiplicării s-au cuantificat, pentru fiecare variantă, doi parametri: coeficientul de multiplicare și eficiența regenerării. Valorile obținute au evidențiat diferențe între soiurile de prun studiate, determinate atât de variantele de cultură studiate, dar și dependent de genotip (Strîmbu și colab., 2025).

Soiurile de prun microînmulțite în cadrul etapei de multiplicare au prezentat potențial în vederea conservării pe termen scurt prin utilizarea tehnicilor de cultură de țesuturi (Strîmbu și colab., 2025). Conservarea pe termen scurt a culturilor *in vitro* în condiții standard a permis menținerea viabilității acestora prin asigurarea unei compoziții optime a mediilor de cultură.

Lăstarii rezultați în etapa de multiplicare au reprezentat și sursa de explante pentru conservarea pe termen scurt prin **tehnica încapsulării**, denumită și tehnica obținerii de semințe artificiale. Tehnica de microîncapsulare este o tehnică de biotehnologie vegetală, care reprezintă o soluție sustenabilă la provocările legate de propagarea și conservarea materialului vegetal. Semințele sintetice sunt unități încapsulate artificial care conțin explante, precum embrioni somatici sau zigotici,

apexuri, celule sau alte micropropagule, capabile să se dezvolte într-o plantă în condiții adecvate (Rihan și colab., 2017).



Figura 51. Lăstari de prun în etapa de multiplicare, în camera de vegetație (sus); explante regenerare, cu diferențe vizibile în mărime, formă și vigoare (jos)

Apexurile lăstarilor apicali proveniți din culturi *in vitro* de la zece soiuri de prun: Andreea, Anna Späth, Blue free, Carpatin, Centenar, Geta, Gras ameliorat, Elena, Minerva și Silvia au fost excizate aseptice și dispersate într-o soluție compusă din mediul de cultură MS și alginat de sodiu (Fig. 52a). Explantele împreună cu o mică cantitate de soluție de alginat de sodiu au fost apoi adăugate sub formă de picătură (Fig. 52b) într-o soluție de $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$. Sferele de alginat au fost complexate timp de 30 min, apoi uscate de excesul de soluție pe hârtie de filtru (Fig. 52c) și transferate ulterior pe mediu de conservare (Fig. 52d).

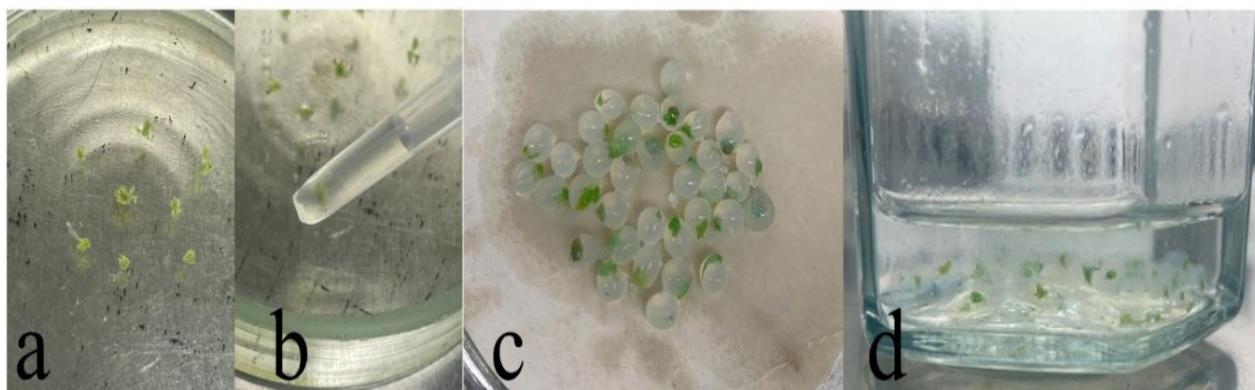


Figura 52. Tehnica microîncapsulării explantelor de prun

a – apexuri *in vitro* în soluția de alginat de sodiu; b – încapsularea sub formă de picătură;
c – explante încapsulate; d - explante în mediu lichid

Semințele sintetice au fost obținute prin reacția de complexare dintre alginatul de sodiu și clorura de calciu, pentru a produce alginat de calciu. După încapsulare semințele sintetice au fost menținute într-un mediu nutritiv lichid de conservare, compus din mediul de cultură MS standard cu macro- și microelemente, vitamine și zaharoză.

Apexurile lăstarilor de prun au fost încapsulate și conservate prin două variante experimentale, pentru evaluarea potențialului de păstrare pe termen scurt al germoplasmei.

În cadrul primului experiment, explantele încapsulate în alginat de calciu suplimentat cu sucroză au fost menținute la 4°C, în întuneric, timp de 90 de zile. După 30 de zile, dintre cele zece soiuri analizate, șapte au prezentat capacitate de germinare, cu valori cuprinse între 25,0% și 85,7%. Cele mai bune rezultate au fost obținute pentru soiurile Geta și Gras ameliorat, care au manifestat un potențial ridicat pentru conservarea pe termen scurt (Fig. 53). Evaluarea germinării și regenerării a evidențiat diferențe semnificative între genotipuri. Astfel, după 30 de zile de la inițierea conservării, rata de germinare a atins valori de 85,7% la soiul Geta și 64,9% la Gras ameliorat, valorile diminuându-se progresiv odată cu prelungirea perioadei de stocare. După 90 de zile, germinarea a scăzut semnificativ, ajungând la 20% la soiul Geta și 8,3% la Gras ameliorat (Fig. 54A).

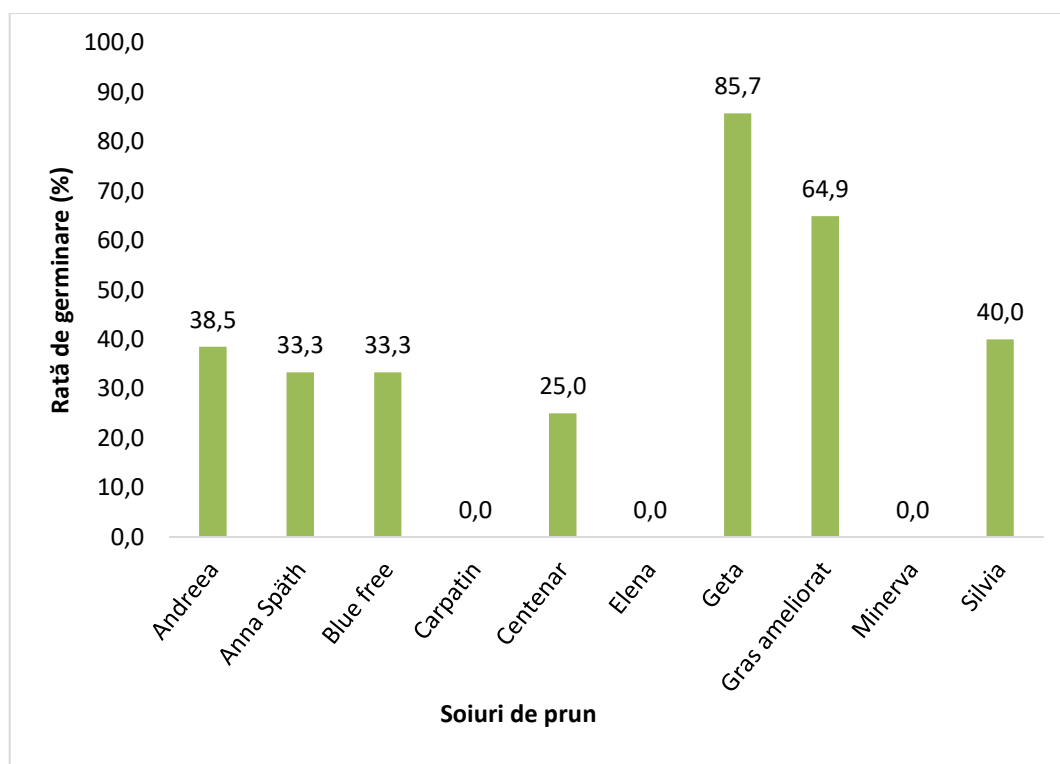


Figura 53. Rata de germinare a explantelor încapsulate aparținând diferitelor soiuri de prun după 30 de zile

O tendință similară a fost observată și în cazul regenerării, soiul Geta prezentând o rată de regenerare de 100% după 30 de zile, comparativ cu 43,7% pentru Gras

ameliorat. După 90 de zile, regenerarea a fost foarte redusă, fiind observată doar la soiul Geta (Fig. 54B).

Rezultatele indică faptul că prelungirea conservării până la 90 de zile la temperatura de 4°C și întuneric afectează semnificativ capacitatea regenerativă a explantelor de prun.

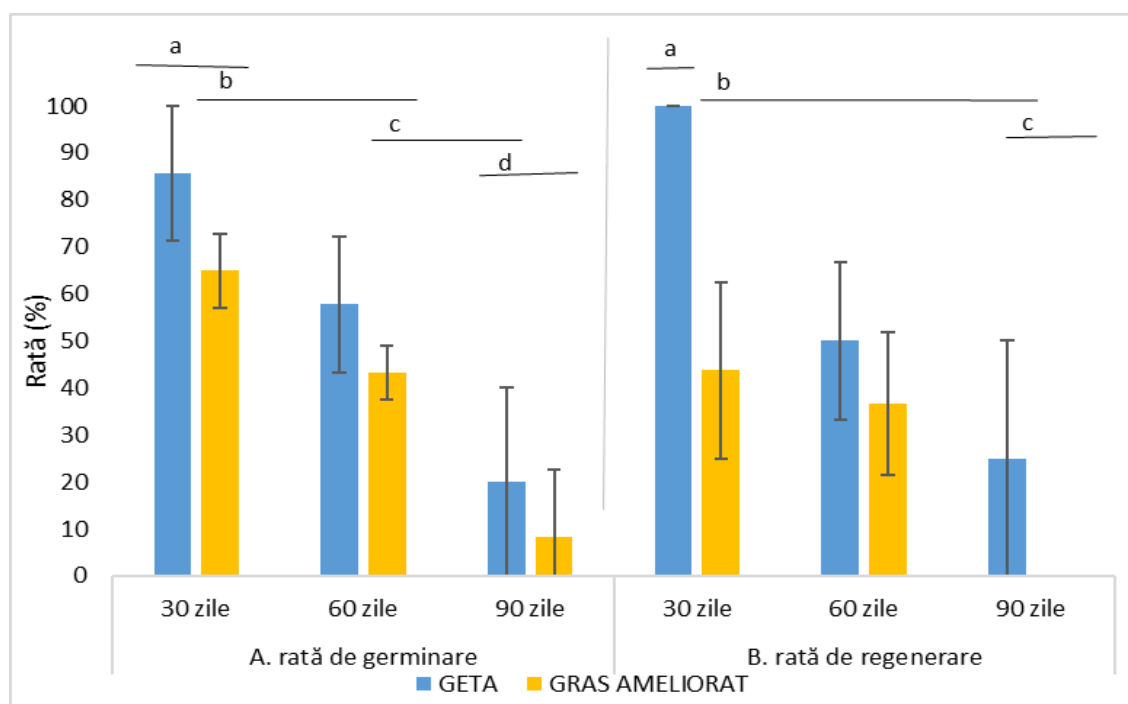


Figura 54. Rata de germinare (A) și rata de regenerare (B) a microîncapsulatelor pentru soiurile Geta și Gras ameliorat (Experimentul I)

În al doilea experiment, explantele încapsulate au fost conservate fie fără tratament suplimentar (T1), fie după deshidratare în soluție de zaharoză timp de trei ore (T2), urmată de depozitare la 4°C în condiții de fotoperiodă 16/8 ore (Fig. 55). Evaluările efectuate la intervale de două săptămâni au arătat că răspunsul explantelor a fost influențat atât de genotip, cât și de tratament.

Pentru soiul Geta, tratamentul de deshidratare (T2) a determinat constant rate mai ridicate de germinare și regenerare, cele mai ridicate valori fiind înregistrate după 6–8 săptămâni de conservare. În schimb, pentru soiul Gras ameliorat, regenerarea a fost mai eficientă în varianta fără deshidratare (T1).

Rezultatele evidențiază existența unor interacțiuni semnificative între genotip și tratament, eficiența conservării fiind dependentă de particularitățile fiecărui soi. În ansamblu, tehnologia microîncapsulării și a semințelor sintetice s-a dovedit promițătoare pentru conservarea pe termen scurt a germoplasmei de prun.

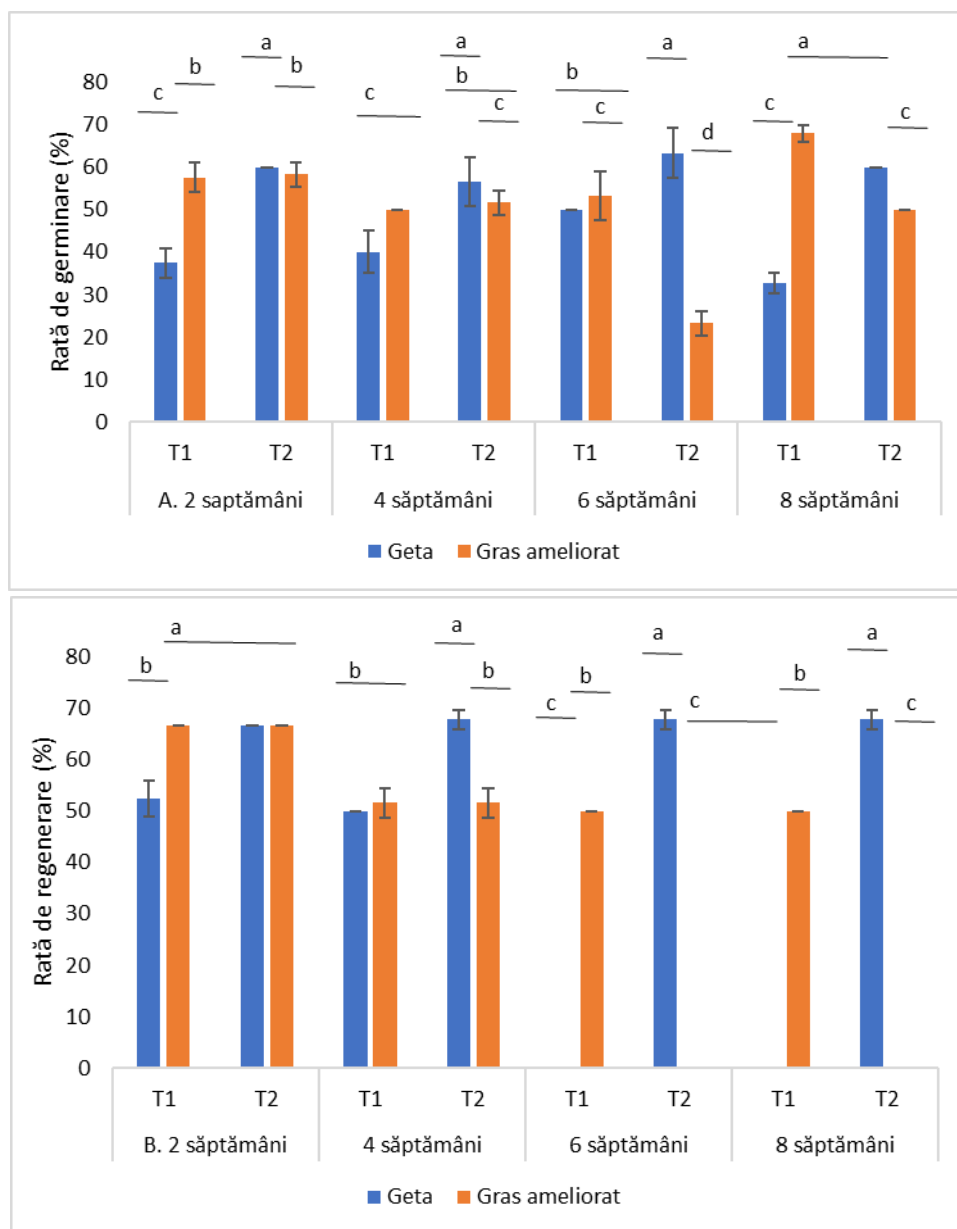


Figura 55. Rata de germinare (A) și rata de regenerare (B) a microîncapsulatelor, la soiurile Geta și Gras ameliorat (Experimentul II)

6.3.2.2. Conservarea *in vitro* pe termen mediu

Conservarea pe termen mediu este reprezentată de tehnica creșterii lente, cunoscută și sub denumirea de creștere minimă și este o tehnică promițătoare pentru creșterea duratei de păstrare a culturilor *in vitro*, prin reducerea timpului între subcultivări (Benelli și colab., 2022; Hemanthakumar și Preetha, 2023).

Tehnica creșterii lente implică modificarea factorilor fizici și a compoziției mediului de cultură pentru a încetini activitatea metabolică și rata de dezvoltare a țesuturilor vegetale menținute în condiții *in vitro*. Acest lucru poate fi realizat prin ajustarea mediului de cultură sau a condițiilor de cultură, precum temperatura, intensitatea luminii, conținutul de nutrienți, agenții osmotici și tipul și concentrația

regulatorilor de creștere (Cha-um și Kirdmanee, 2007; Lambardi și Ozudogru, 2013; Arbeloa și colab., 2017).

Tehnica creșterii lente a fost implementată la SCDP Bistrița utilizând lăstari cu lungimea de 1,5–2,5 cm, excizați din culturi *in vitro* multiplicare anterior. Au fost evaluate trei medii diferite, fiecare dintre acestea având mediul bazal Murashige & Skoog (MS) suplimentat cu vitamine MS, acid ascorbic, agar, citochinine și auxine și unul din cei trei agenți osmotici: sucroză, sorbitol sau manitol.

Culturile au fost menținute în întuneric, la temperatura de 4°C, iar viabilitatea lor a fost evaluată lunar. Datele privind ratele de supraviețuire au fost înregistrate lunar după inițierea conservării și exprimate ca procent de lăstari viabili din numărul total de plante stocate.

După fiecare perioadă de depozitare (3/6/9/12 luni), un recipient cu explantele conservate prin tehnica creșterii lente a fost transferat pe mediul de regenerare, pentru fiecare genotip și fiecare agent osmoti, în condiții standard de cultură. Mediul de regenerare a fost constituit din mediul bazal MS cu vitamine MS, polivinilpirolidonă, acid ascorbic, zaharoză, agar și citochinine.

Figura 56 prezintă evoluția ratei de supraviețuire (%) a mai multor soiuri de prun în condiții de creștere minimă pe parcursul a maxim 12 luni în prezența celor trei agenți osmotici - sucroză, sorbitol și manitol.

În general, rata de supraviețuire a scăzut odată cu prelungirea perioadei de conservare, însă amplitudinea reducerii a depins de genotip și de agentul osmoti utilizat. Sucroza a asigurat cele mai bune rezultate, permițând menținerea culturilor timp de 11–12 luni pentru toate soiurile analizate. Sorbitolul a avut o eficiență intermediară, cu perioade de conservare de 9–12 luni pentru toate soiurile, în timp ce manitolul a determinat reducerea rapidă a viabilității și perioade mai scurte de conservare, de 3–10 luni.

Unele soiuri, precum Geta și Minerva, au manifestat o toleranță mai ridicată la condițiile de conservare, menținând valori ridicate ale supraviețuirii pentru perioade mai lungi. Sucroza și sorbitolul au susținut regenerarea și multiplicarea explantelor, în timp ce manitolul a fost asociat frecvent cu necrozarea țesuturilor sau cu reducerea accentuată a capacității regenerative.

Rezultatele obținute demonstrează că tehnicile de conservare *in vitro* reprezintă metode eficiente pentru păstrarea pe termen mediu a germoplasmei prunului. Eficiența acestora este influențată de genotip, de durata conservării și de compoziția mediului de cultură.

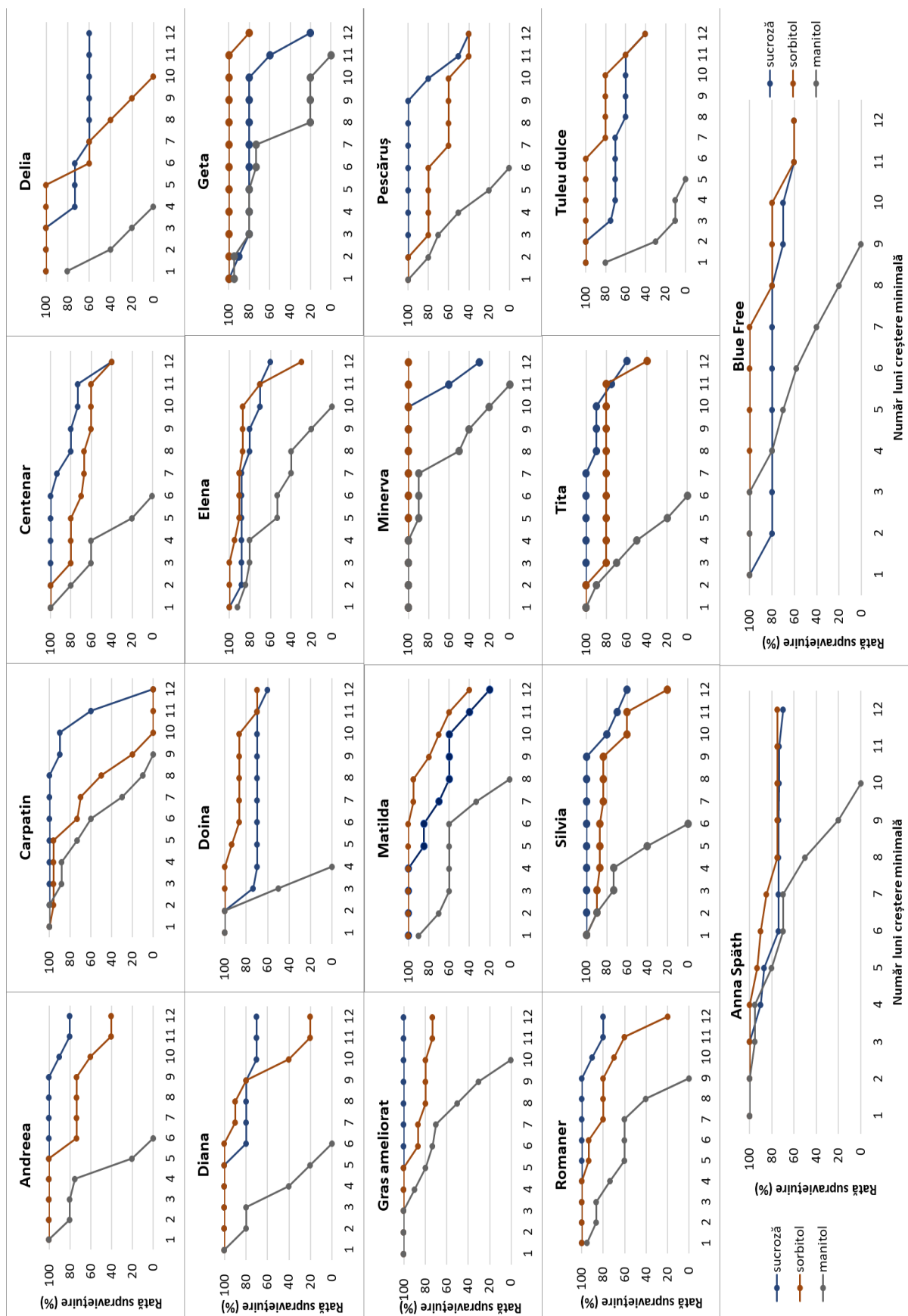


Figura 56. Rata de supraviețuire pentru soiurile de prun conservate prin tehnica creșterii lente

6.3.2.3. Conservarea *in vitro* pe termen lung

Tehnica conservării *in vitro* pe termen lung se realizează prin crioconservare, tehnică care presupune păstrarea materialului biologic la temperaturi foarte scăzute, în azot lichid la temperatura de aproximativ -196°C . În aceste condiții, procesele metabolice sunt practic oprite, ceea ce permite menținerea viabilității și stabilității genetice a materialului pentru perioade îndelungate, fără riscul îmbătrânirii sau al contaminării.

Această tehnică a fost aplicată la soiurile de prun cu status indemn prin utilizarea a două tehnici de crioconservare, și anume picurare-vitrificare și încapsulare-deshidratare. Materialul biologic utilizat a fost reprezentat de apexuri cu dimensiunea de 1–2 mm, excizate din culturile *in vitro* multiplicat anterior.

În prealabil etapelor de deshidratare sau vitrificare, explantele au fost supuse unui pre-tratament în mediu MS lichid suplimentat cu zaharoză și glicerol, cu rol crioprotector.

În cadrul tehnicii de încapsulare-deshidratare, reducerea conținutului de apă din explante s-a realizat cu ajutorul compusului silica gel, pe parcursul câtorva ore, iar în cazul tehnicii de picurare-vitrificare a fost utilizat agentul de vitrificare PVS2. Ulterior, explantele au fost imersate rapid în azot lichid, în vederea conservării acestora pentru perioade extinse de timp.

În urma regenerării, s-a urmărit ca materialul crioconservat să își mențină capacitatea de creștere, regenerare sau reproducere, aspect ce confirmă eficiența crioconservării ca metodă de preservare pe termen lung a materialului vegetal. Regenerarea apexurilor după crioconservare a fost realizată prin transferul acestora pe mediul nutritiv MS suplimentat cu zaharoză, agar și citochinine.

*

Prin utilizarea tehnicilor de culturi de țesuturi, microîncapsulare, creștere lentă și crioconservare poate fi asigurată conservarea materialului vegetal valoros și liber de patogeni, cu importanță majoră pentru programele de ameliorare și pentru conservarea resurselor genetice.

Conservarea *in vitro* prezintă multiple avantaje, printre care reducerea riscului de reinfecție, necesarul redus de spațiu pentru păstrarea colecțiilor biologice și posibilitatea regenerării rapide a materialului vegetal. Totodată, această metodă facilitează schimbul de germoplasmă în condiții de siguranță fitosanitară și constituie o etapă importantă în programele de devirozare și micropropagare.

6.4. Devirozarea materialului infectat prin tehnici moderne *in vitro*

Devirozarea reprezintă o etapă esențială în conservarea și valorificarea resurselor genetice pomicole, deoarece permite recuperarea și reintroducerea în circuitul de multiplicare a unor genotipuri valoroase infectate cu virusuri, care, în absența unor astfel de intervenții, ar fi excluse din programele de producere a materialului de înmulțire cu status indemn.

Portaltoiul BN 4Kr este un portaltoi de *Prunus cerasifera* obținut la SCDP Bistrița de către Minoiu și Vlădianu (2001), prin selecție dintr-o populație locală de mirobolan iradiată cu Co^{60} , la nivelul de 4000 rad. Acesta este singurul portaltoi de mirobolan rezistent la virusul plum pox (Zagrai L. și colab., 2020) și, prin urmare, prezintă un potențial ridicat de extindere în producție. Portaltoiul BN 4Kr imprimă o vigoare mijlocie pomilor, drajonează limitat în livadă și poate fi ușor înmulțit vegetativ prin butășire (Feștilă și colab., 2013; Stănică și colab., 2019) și prin tehnici de cultură *in vitro* (Stănică și colab., 2019; Vlașin și colab., 2025b).

Având în vedere valoarea agronomică a portaltoiului BN 4Kr și confirmarea infecției acestuia cu *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV), virus aparținând genului *Illavirus*, cercetările au fost orientate către evaluarea eficienței diferitelor tehnici de devirozare, în scopul obținerii de material biologic cu status indemn.

Procesul de microînmulțire a inclus etapele de inițiere și stabilizare, multiplicare și înrădăcinare, desfășurate în condiții stricte de asepsie, în prezența unor medii de cultură specifice fiecărei etape.

În etapa de inițiere au fost excizate meristeme apicale și axilare, inoculate pe medii nutritive specifice pentru obținerea unor culturi viabile (Fig. 57).

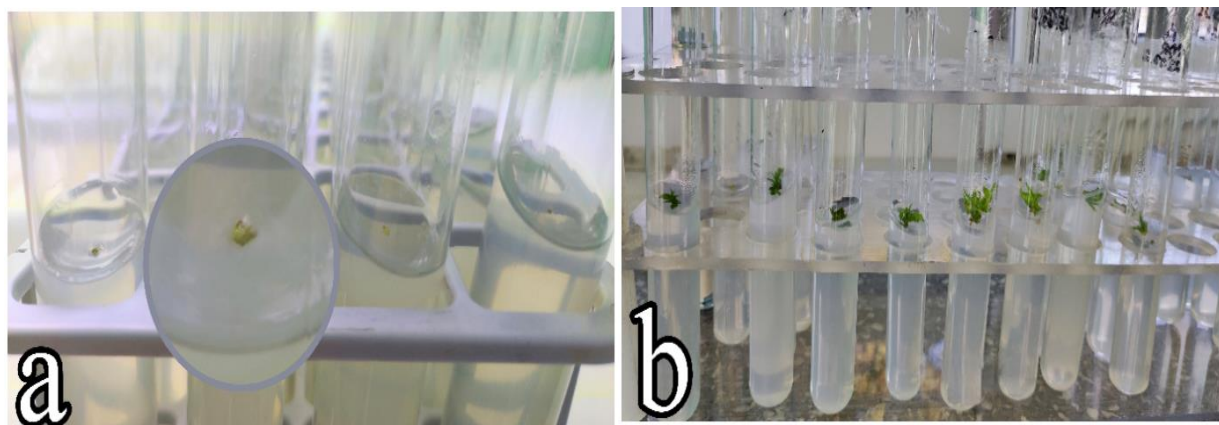


Figura 57. Etapa de inițiere și stabilizare a culturilor de meristeme la portaltoiul BN 4Kr. a - meristeme inoculate în ziua 1; b - regenerarea meristemelor la 4 săptămâni

Explantate rezultate în etapa anterioară au fost transferate pe mediul de multiplicare, unde plantulele au fost fortificate și multiplicare în cicluri succesive. Ca tehnică martor de devirozare a fost utilizată tehnica culturii de meristeme, metodă bazată pe excizarea și cultivarea meristemelor în vederea obținerii de plante libere de

virusuri. Lăstarii viguroși rezultați au fost supuși mai multor tehnici de devirozare, precum termoterapia, chimioterapia și combinarea acestora.

a). Termoterapia a constat în expunerea minibutașilor viguroși rezultați în etapa de multiplicare la temperaturi ridicate pentru o anumită perioadă de timp, urmată de excizarea și regenerarea meristemelor.

Tehnica termoterapiei a presupus creșterea graduală a temperaturii de la 23°C la 37°C, cu 1-2°C pe zi, și menținerea la această temperatură pentru o perioadă de 21 de zile. Condițiile din camera de termoterapie au fost de 60±5% umiditate relativă și fotoperioadă de 16/8 h. După încheierea ciclului de termoterapie, s-a realizat cultura de meristeme prin excizarea meristemelor apicale în trei dimensiuni: 0,1-0,3 mm (A); 0,4-0,6 mm (B); 0,7-0,8 mm (C) (Fig. 58). S-a realizat cultivarea acestora pe medii de cultură suplimentate cu fitohormoni de tip citochininic, iar la intervale de 4 săptămâni s-a realizat multiplicarea acestora în cicluri succesive și ulterior înrădăcinarea *in vitro*.

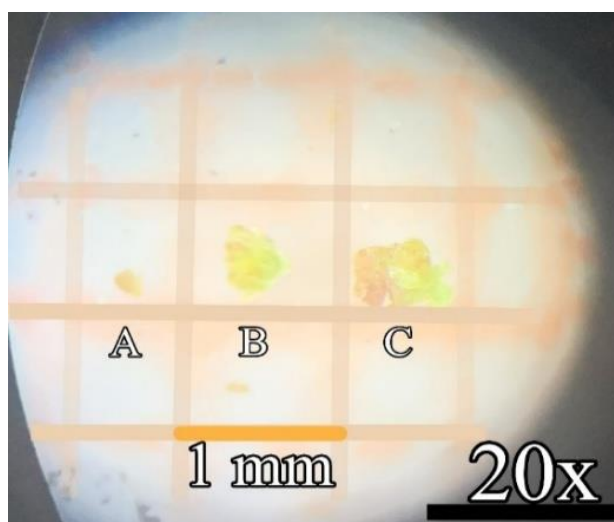


Figura 58. Excizarea meristemelor în urma termoterapiei - imagine la binocular
(A - 0,1-0,3 mm; B - 0,4-0,6 mm; C - 0,7-0,8 mm)

b). Chimioterapia a presupus cultivarea explantelor pe medii suplimentate cu substanțe antivirale. Minibutașii viguroși rezultați în cadrul etapei de multiplicare au fost transferați pe mediul de cultură de multiplicare suplimentat cu trei tipuri de substanțe antivirale: ribavirina, aciclovir și acid salicilic, în vederea metabolizării de către plantule. Cele trei substanțe antivirale s-au adăugat individual în mediile de cultură cu ajutorului filtrului Milipore 0,22 μm (Fig. 59), în două concentrații, de 25 mg L⁻¹, respectiv 50 mg L⁻¹ pentru fiecare antiviral în parte. După un interval de 4 săptămâni pe acest mediu de cultură cu substanțele antivirale, s-a realizat excizarea apexului plantulelor supuse chimioterapiei în vederea regenerării acestora. La intervale de 4 săptămâni s-a realizat multiplicarea acestora în cicluri succesive și ulterior înrădăcinarea *in vitro*.



Figura 59. Adăugarea antiviralelor cu ajutorul filtrului Milipore 0,22 µm

Au fost testate și variante combinate, prin asocierea tratamentelor termice și antivirale, aplicate simultan sau succesiv, pentru creșterea eficienței eliminării virusului, precum chimio-termoterapia simultan, termo-chimioterapie și chimio-termoterapie.

c). Chimio-termoterapie simultan. Minibutașii viguroși rezultați în cadrul etapei de multiplicare au fost transferați pe mediul de cultură de multiplicare suplimentat cu substanța antivirală ribavirină în două concentrații 25 mg L⁻¹, respectiv 50 mg L⁻¹. După inocularea pe mediul de cultură ce conține ribavirină, explantele s-au supus termoterapiei *in vitro*, în aceeași zi, etapele acestea fiind descrise la punctul a). După un interval de 4 săptămâni pe mediu de multiplicare, s-a realizat excizarea meristemelor plantulelor supuse chimio-termoterapiei simultan în vederea regenerării acestora. La intervale de 4 săptămâni s-a realizat multiplicarea explantelor în cicluri succesive și ulterior înrădăcinarea *in vitro*.

d). Termo-chimioterapie. Plantulele rezultate în cadrul etapei de multiplicare au fost supuse tratamentului termic, tehnică descrisă la punctul a). După parcurgerea acestei etape s-a realizat excizarea meristemelor de la lăstarii regenerați și s-au cultivat pe mediul de cultură specific. După o perioadă de 30 de zile, cele mai viguroase plantule au fost transferate pe mediul de cultură suplimentat cu trei tipuri de substanțe antivirale: ribavirina, aciclovir sau acid salicilic, în vederea metabolizării de către plantule. Cele trei substanțe antivirale s-au adăugat individual în mediile de cultură cu ajutorul filtrului Milipore 0,22 µm, în două concentrații, 25 mg L⁻¹ respectiv 50 mg L⁻¹, pentru fiecare antiviral în parte. După un interval de 4 săptămâni pe acest mediu de cultură cu substanța antivirală, s-a realizat excizarea apexului plantulelor în vederea regenerării acestora. La intervale de 4 săptămâni s-a realizat multiplicarea explantelor în cicluri succesive și ulterior înrădăcinarea *in vitro*.

e). Chimio-termoterapia. Minibutașii viguroși din cadrul etapei de multiplicare au fost supuși tratamentului cu antivirale: ribavirina, aciclovir și acid salicilic, în concentrație de 50 mg L⁻¹, pentru o perioadă de 30 de zile, fiind transferați ulterior pe mediul de cultură specific și supuși termoterapiei (tehnică descrisă la punctul a). După încheierea termoterapiei a avut loc excizarea meristemelor și cultivarea pe mediul proaspăt. La intervale de 4 săptămâni s-a realizat multiplicarea acestora în cicluri succesive și ulterior înrădăcinarea *in vitro*.

După aplicarea tratamentelor de devirozare, explantele regenerate au fost multiplicare și ulterior înrădăcinate *in vitro*. Eficiența tehnicilor utilizate a fost evaluată prin analiza parametrilor de creștere și regenerare, precum și prin analiza statistică a datelor experimentale.

Rezultatele au evidențiat diferențe importante între tehnicile de devirozare în ceea ce privește supraviețuirea explantelor și capacitatea de multiplicare a plantulelor. Cultura de meristeme a înregistrat cele mai ridicate valori ale ratei de supraviețuire (Tab. 7) și ale coeficientului de multiplicare (Fig. 60), demonstrând o capacitate regenerativă superioară.

Tabelul 7

Rata de supraviețuire a plantulelor în urma tehnicilor de devirozare

Tehnica de devirozare		Rata supraviețuire (%)
Cultura de meristeme		95
Termoterapia	A	50
	B	66,7
	C	62,5
Chimioterapie	R25	90
	R50	90
	A25	83,3
	A50	66,7
	S25	90
	S50	60
Chimio-termoterapia simultan	R25	90
	R50	80
Termo-chimioterapie	R25	92,9
	R50	64,6
	A25	20
	A50	20
	S25	0
	S50	0
Chimio-termoterapie	R50	61,1
	A50	31,7
	S50	28,4

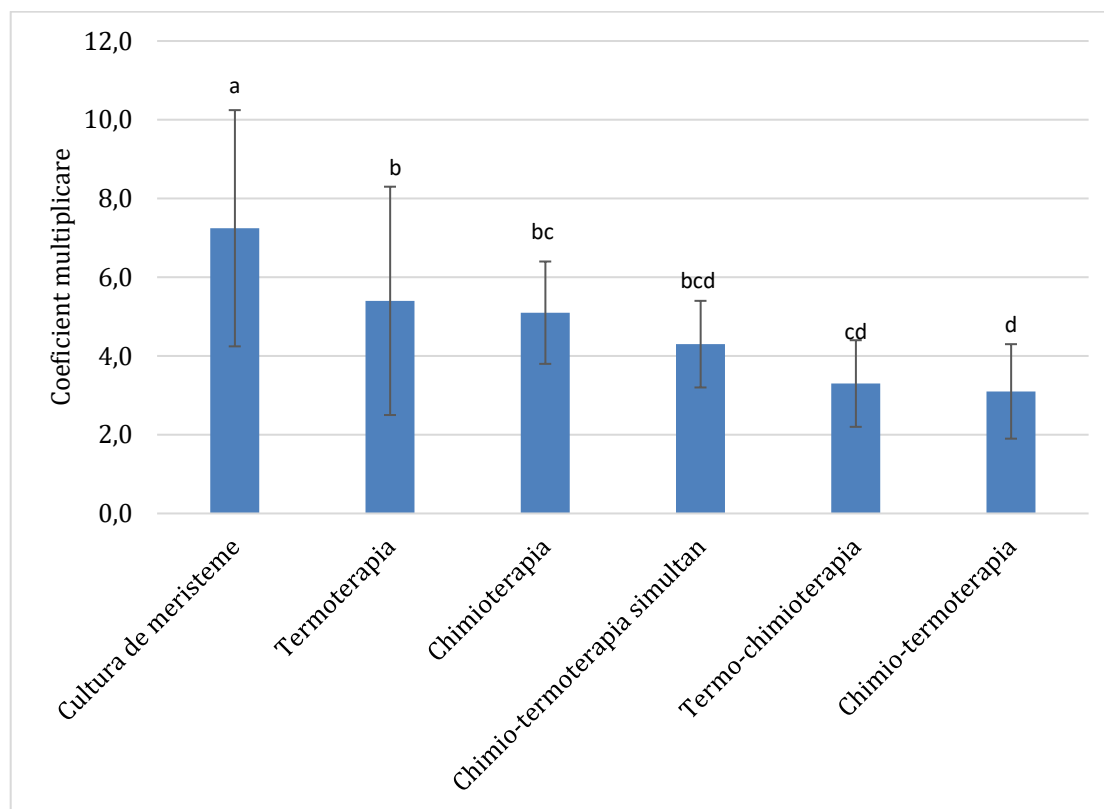


Figura 60. Media coeficientului de multiplicare în funcție de tehnica de devirozare

Datele sunt exprimate ca media±deviația standard. Diferențele dintre oricare două variante sunt nesemnificative dacă valorile lor sunt urmate de cel puțin o literă comună (testul Tukey, $p < 0,05$)

În cazul termoterapiei, explantele de dimensiuni mai mici (A) au prezentat o rată de supraviețuire redusă comparativ cu cele mai mari (B, C). În cadrul chimioterapiei, ribavirina (R) în ambele concentrații (R25 și R50) a asigurat cele mai bune rezultate privind supraviețuirea explantelor (90%), în timp ce concentrațiile ridicate de aciclovir (A50) și acid salicilic (S50) au determinat efecte fitotoxice moderate și reducerea vigorii plantulelor. Aplicarea combinată a tratamentelor termice și antivirale a redus, în general, potențialul de multiplicare și dezvoltarea lăstarilor, efect asociat stresului acumulat asupra explantelor.

În ansamblu, rezultatele arată că tehnica culturii de meristeme, aplicată independent de alte metode de devirozare, a asigurat dezvoltarea unor lăstari cu potențial ridicat de multiplicare. În schimb, aplicarea individuală a termoterapiei sau a chimioterapiei au determinat un potențial moderat de multiplicare. Cea mai redusă capacitate de multiplicare a fost înregistrată în cazul combinării tehnicilor de devirozare prin termo- și chimio-terapie, efect atribuit acțiunii cumulative a tratamentului termic și a compușilor antivirali din mediul de cultură, care au indus inhibarea creșterii explantelor. Cu toate acestea, în etapa de multiplicare, plantulele dezvoltate *in vitro* în urma tehnicilor de devirozare au prezentat o dezvoltare optimă (Fig. 61), permițând folosirea lor în etapa următoare de înrădăcinare (Fig. 62).

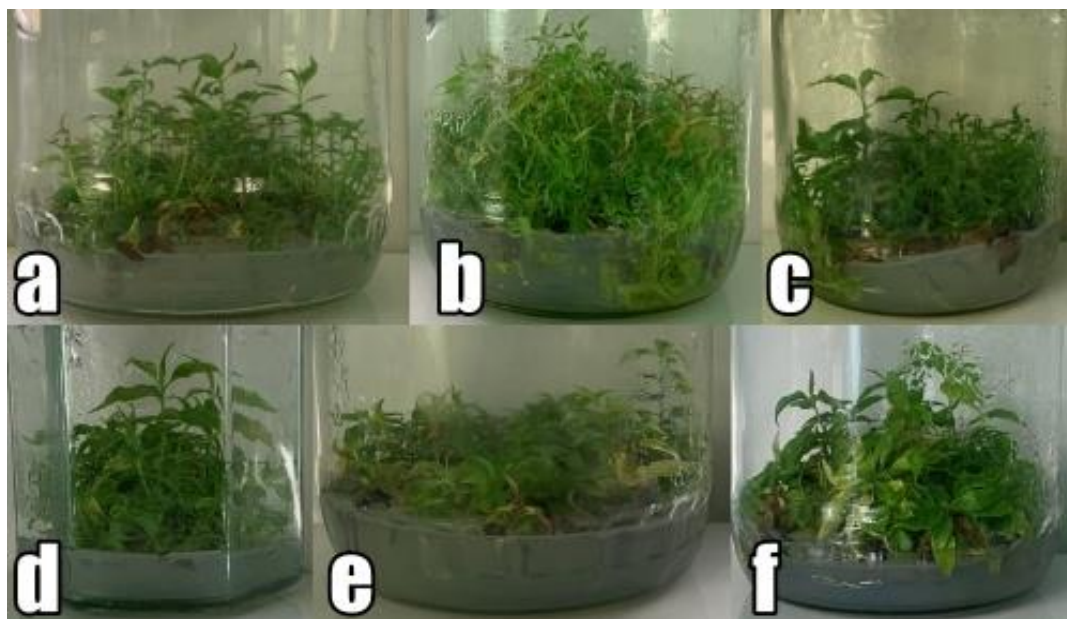


Figura 61. Plantule în etapa de multiplicare rezultate în urma tehnicilor de devirozare
(a. cultură de meristeme; b. termoterapie, c. chimioterapie; d. chimio-termo-terapie simultan; e. termo-chimioterapie; f. chimio-termoterapie)



Figura 62. Plante cu rădăcini bine dezvoltate rezultate după chimioterapie cu ribavirină

Plantulele regenerate au fost ulterior aclimatizate în spații protejate, unde au fost menținute în condiții controlate de umiditate (Fig. 63).

Verificarea statusului viral al plantelor regenerate a fost realizată prin testări serologice DAS-ELISA și moleculare prin IC-RT-PCR. Totodată, un eșantion reprezentativ de plante a fost supus indexării și pe indicatori biologici lemnoși. Rezultatele testărilor au relevat că majoritatea tehnicilor de devirozare aplicate au condus la eliminarea PNRSV, cu excepția tehnicilor de cultură de meristeme și chimioterapie cu aciclovir și acid salicilic (Fig. 64), obținându-se un număr ridicat de plante libere de virus.



Figura 63. Etapa de aclimatizare în spații protejate

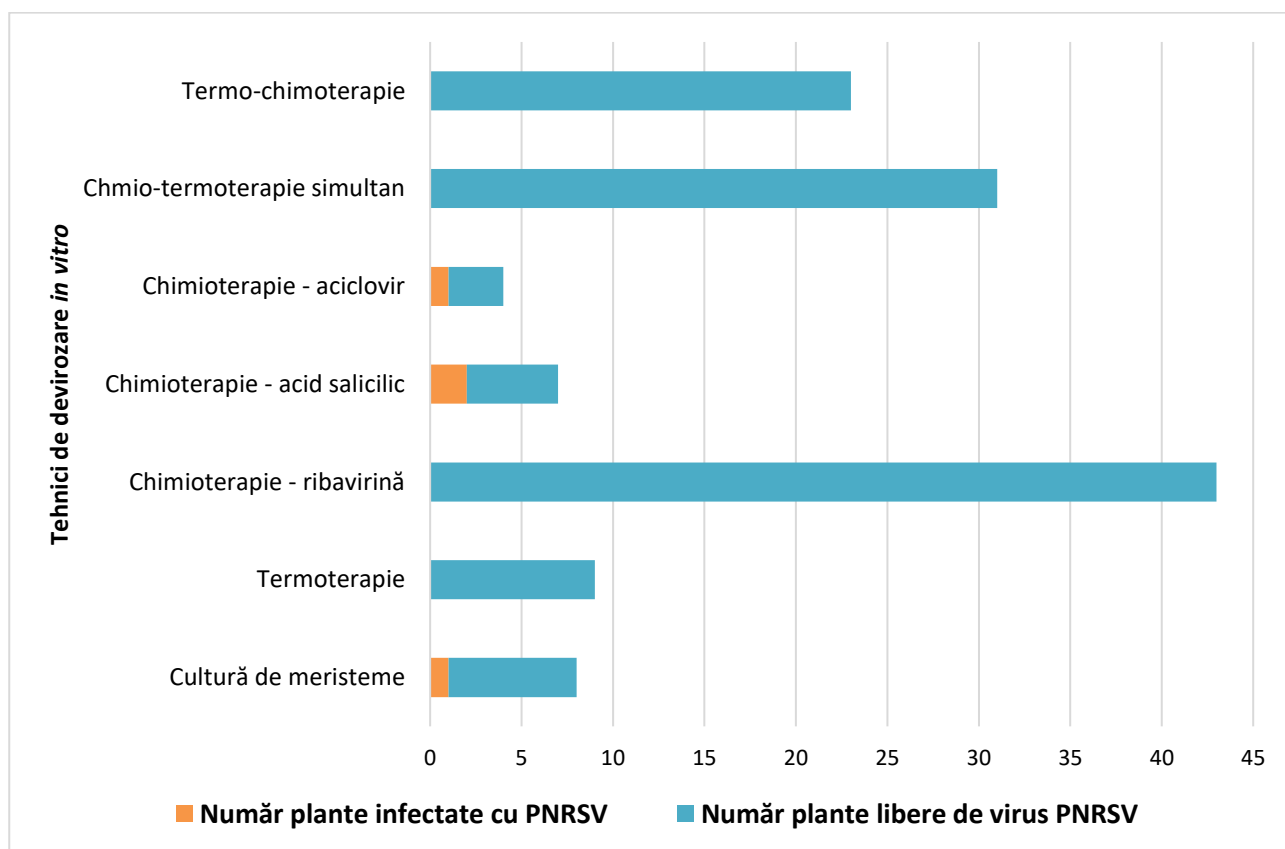


Figura 64. Eficiența tehnicilor de devirozare a plantelor în cazul portaltoiului BN 4Kr

Rezultatele obținute confirmă eficiența tehnicilor de devirozare *in vitro* în eliminarea infecțiilor virale și în obținerea unui material biologic sănătos pentru portaltoiul BN 4Kr.

Aplicarea metodelor de cultură *in vitro*, asociate cu proceduri riguroase de testare fitovirotică, a permis regenerarea unor plante, stabile biologic și corespunzătoare utilizării în schemele de multiplicare și certificare a materialului de înmulțire.

Aceste rezultate evidențiază potențialul tehnologiilor de devirozare *in vitro* ca instrument eficient pentru reabilitarea genotipurilor valoroase afectate de infecții virale, contribuind la conservarea și valorificarea fondului genetic pomicol. Totodată, protocolul aplicat la portaltoiul BN 4Kr poate constitui un model tehnologic pentru extinderea proceselor de eliberare de virusuri și la alte specii și genotipuri horticoale, în funcție de particularitățile biologice și de comportamentul acestora în condiții de cultură *in vitro*.

Implementarea unor astfel de tehnologii are o importanță majoră în producerea de material săditor sănătos, în limitarea răspândirii virozelor și în susținerea sistemelor moderne de certificare fitosanitară din pomicultură.

6.5. Demonstrarea funcționalității unui sistem integrat de obținere și menținere a materialului de înmulțire și plantare cu status indemn la specia prun

România se află în fața unei provocări majore generate de implementarea noii legislații privind producerea și certificarea materialului de înmulțire pomicol, care impune reorganizarea întregului lanț piramidal de producere și menținere a materialului biologic în conformitate cu noile reglementări europene și naționale.

Realizarea acestui obiectiv presupune existența unor facilități specializate pentru izolarea și conservarea materialului din categoriile biologice superioare, precum și a unor laboratoare capabile să implementeze metode moderne de diagnostic viral și fitoplasmatic, tehnici de devirozare și proceduri de conservare *in vitro*.

În acest context, prunul, specie pomicolă de importanță majoră pentru România, este puternic afectat de infecții virale, bacteriene și fungice, ceea ce impune utilizarea unui material de plantare sănătos, certificat și conform standardelor actuale. Producerea unui astfel de material depinde însă de existența unui sistem funcțional de obținere și menținere a materialului de înmulțire din categoriile biologice superioare, capabil să asigure material cu status indemn pe întreg lanțul de multiplicare.

Activitățile realizate în cadrul acestui proiect au permis dezvoltarea și validarea unui astfel de sistem integrat pentru specia prun. Au fost obținute și menținute plante din categoriile biologice superioare PREBAZĂ și BAZĂ la 29 de soiuri de prun valoroase, în principal din soiurile autohtone, în conformitate cu cerințele legislative actuale. Acest material nucleu indemn la specia prun este structurat pe întreg lanțul piramidal de producere a materialului de înmulțire (Zagrai L. și colab., 2026b).

Prin aplicarea tehnicilor moderne de diagnostic serologic, molecular și biologic, asociate procedurilor de devirozare prin termo- și chimioterapie, a fost posibilă obținerea de material vegetal cu status indemn. De asemenea, utilizarea tehnologiilor de microîncapsulare, conservare *in vitro* și creștere lentă a demonstrat eficiența strategiilor de biodepozitare și conservare pe termen scurt și mediu a germoplasmei valoroase. Aceste rezultate au creat premisele inițierii unei bănci de gene cu material nucleu conservat în condiții controlate.

Materialul conservat *ex situ* în biodepozitare și *in vitro* este monitorizat permanent din punct de vedere morfologic și fitosanitar, iar subculturile periodice permit menținerea viabilității și stabilității biologice a plantelor. Prin asocierea conservării *in vitro* cu testările serologice și moleculare se asigură păstrarea statusului indemn și disponibilitatea unui material biologic de înaltă calitate pentru multiplicare și cercetare.

Materialul biologic obținut și menținut în cadrul acestui sistem constituie baza pentru producerea materialului de plantare conform noilor reglementări, demonstrând funcționalitatea întregului sistem de obținere, conservare, multiplicare și utilizare a materialului de înmulțire la specia prun.

Prin realizările obținute a fost validată funcționarea unui sistem integrat capabil să asigure producerea și menținerea materialului biologic din categoriile superioare, precum și furnizarea de material de plantare conform standardelor europene.

Acest model reprezintă un pas important pentru reducerea dependenței de material biologic provenit din import și pentru conservarea și valorificarea soiurilor autohtone valoroase. Totodată, sistemul dezvoltat poate constitui un model funcțional extensibil și la alte specii pomicele, contribuind la consolidarea sectorului național de producere a materialului săditor certificat.

Bibliografie

- Achim, G., Botu, I., Botu, M., Preda, S., Baci, A. (2008). Plum rootstocks for intensive plum culture. In: IX International Symposium on Plum and Prune Genetics, Breeding and Pomology, 874, 299-304.
- Adil, S., Singh, V., Anjum, A., Quraishi, A. (2022). A mini-review on electrotherapeutic strategy for the plant viral elimination. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 150(1), 41-55.
- Afanador-Barajas, L.N., Wilches, A.V., Macana, Y.A.M., Medina-Pérez, G. (2022). History, distribution, production and taxonomic classification of plum. In *Handbook of plum fruit* (pp. 1-20). CRC Press.
- Agrawal, A., Gowthami, R., Chander, S., Srivastava, V., Shankar, M., Deepak, D.A. (2024). Biotechnological tools for conservation of plant genetic diversity. In: *Sustainable utilization and conservation of plant genetic diversity*, (pp. 711-752). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Agrios, G.N. (2005). *Plant Pathology*, 5th ed., Elsevier Academic Press.
- Akin-Idowu, P.E., Ibitoye, D.O., Ademoyegun, O.T. (2009). Tissue culture as a plant production technique for horticultural crops. *African Journal of Biotechnology*, 8(16).
- Ali, A., Çakır, E., Doğmuş, S., Derviş, S., Baloglu, M.C. (2022). Evaluation of the ability of seven active ingredients of fungicides to suppress the mycelial growth, sporangial formation and zoospore release of *Phytophthora cactorum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 120, 101841.
- Alston, D. G., Reding, M. E., & Murray, M. (2011). San Jose Scale (*Quadraspidiotus perniciosus*). Utah State University Extension, Utah Pests Fact Sheet 153(6).
- Amari K., Burgos L., Pallas V., Sanchez-Pina M.A. (2009). Vertical transmission of *Prunus* necrotic ringspot virus: hitch-hiking from gametes to seedling. *Journal of General Virology*, 90, 1767-1774.
- Anis, M., Ahmad, N. (Eds.). (2016). *Plant tissue culture: propagation, conservation and crop improvement* (pp. 3-13). Springer Singapore.
- Arbeloa, A., Marín, J.A., Andreu, P., García, E., Lorente, P. (2015). *In vitro* conservation of fruit trees by slow growth storage. In: VI International Symposium on Production and Establishment of Micropropagated Plants 1155, 101-106.
- Arbeloa, A., Marín, J.A., Andreu, P., García, E., Lorente, P. (2017). *In vitro* conservation of fruit trees by slow growth storage. *Acta Hort.* 1155, 101-106.
- Atanasoff D. (1932). Plum pox, A new virus disease. *Yearbook University of Sofia, Faculty of Agriculture and Silviculture*, 11, 49-69.
- Atanasoff D. (1935). Mosaic of stone fruits. *Phytopathol. Z.* 8, 259-284.
- Ayub, H., Nadeem, M., Mohsin, M., Ambreen, S., Khan, F. A., Oranab, S., ... Ullah, S. (2023). A comprehensive review on the availability of bioactive compounds, phytochemicals, and antioxidant potential of plum (*Prunus Domestica*). *International Journal of Food Properties*, 26(1), 2388-2406.
- Azizi-Dargahlou, S., Pouresmaeil, M. (2024). *Agrobacterium tumefaciens*-mediated plant transformation: a review. *Molecular Biotechnology*, 66(7), 1563-1580.
- Azlay, L., El Boukhari, M.E.M., Mayad, E.H., Barakate, M. (2023). Biological management of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.): a review. *Organic Agriculture*, 13(1), 99-117.
- Babović, M., Delibašić, G., Šošić, B., Jakovljević, D. (2000). Causers of dying and decay of cherry tree. *Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik*, 6(2), 33-41.

- Baidoo, R., Mengistu, T., McSorley, R., Stamps, R.H., Brito, J., Crow, W.T. (2017). Management of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on *Pittosporum tobira* under greenhouse, field, and on-farm conditions in Florida. *Journal of nematology*, 49(2), 133.
- Barba M., Pasquini G., Quacquarelli A. (1986). Role of seeds in the epidemiology of two almond viruses. *Acta Horticulturae*, 193, 127-130.
- Barba M., Hadidi A., Candresse T., Cambra M. (2011). Plum pox virus. In: Hadidi A., Barba M., Candresse T., Jelkmann W. (eds) *Virus and Virus-like Disease of Pome and Stone Fruits*. APS Press, St. Paul, MN, USA, 185-197.
- Barraco, G., Chatelet, P., Balsemin, E., Decourcelle, T., Sylvestre, I., Engelmann, F. (2012). Cryopreservation of *Prunus cerasus* through vitrification and replacement of cold hardening with preculture on medium enriched with sucrose and/or glycerol. *Scientia horticulturae*, 148, 104-108.
- Beluzán, F., Armengol, J., Abad-Campos, P. (2023). Pathogenicity of oomycete species to different *Prunus* hybrid rootstocks. *Plant Disease*, 107(5), 1499–1509. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-22-1902-RE>
- Benelli, C. (2021). Plant cryopreservation: A look at the present and the future. *Plants*, 10(12), 2744.
- Benelli, C., Tarraf, W., Izgu, T., De Carlo, A. (2022). In vitro conservation through slow growth storage technique of fruit species: An overview of the last 10 years. *Plants*, 11(23), 3188.
- Bennett, F.D., Brown, S.W. (1958). Life History and Sex Determination in the Diaspine Scale, *Pseudaulacaspis pentagona* (Targ.) (Coccoidea). *The Canadian Entomologist*. 90(6), 317-324.
- Benson, E.E. (2008). Cryopreservation of phytodiversity: a critical appraisal of theory & practice. *Critical reviews in Plant sciences*, 27(3), 141-219.
- Bhat, R.G., Smith, R.F., Koike, S.T., Wu, B.M., Subbarao, K.V. (2003). Characterization of *Verticillium dahliae* Isolates and Wilt Epidemics of Pepper, *Plant Disease*, 87(7), 789-797.
- Bitterlin, M.W., Gonsalves, D. (1986). Persistence of tomato ringspot virus and its vector in cold stored soil. *Acta Hort.* 193, 119-124.
- Bodnár, D., Csüllög, K., Tarcali, G. (2018). Review of the biology of plant psyllid (*Cacopsylla pruni* Scopoli, 1763), and its role in the spreading of European stone fruit yellows (ESFY) phytoplasma with Hungarian data. *Acta Agraria Debreceniensis*, 74, 25–32.
- Bodnár, D., Koczor, S., Tarcali, G., Tóth, M., Ott, P.G., Tholt, G. (2022). *Cacopsylla pruni* (Hemiptera, Psyllidae) in an apricot orchard is more attracted to white sticky traps dependent on host phenology. *Biodiversity Data Journal*, 10, e93612.
- Bordeianu, T., Constantinescu, N., Ștefan, N. (1965). *Pomologia Republicii Socialiste Române - prunul, cireșul, vișinul, cornul*; nr IV, Editura Academiei Republicii Socialiste Române.
- Bordeianu, T., Constantinescu, N., Ștefan, N. (1969). *Pomologia Republicii Socialiste Române – soiuri noi, hibrizi de perspectivă*, nr. VIII, Editura Academiei Republicii Socialiste Române.
- Børve, J., Wenneker, M., Perminow, J. I. S., Brurberg, M. B., Pham, K., Stensvand, A. (2025). Impact of *Pseudomonas syringae* on sweet cherry and plum trees in nurseries and in early-stage sweet cherry orchards. *European Journal of Plant Pathology*, 1-13.
- Botu, I., Achim, Gh., Badea, J. (1998). Behaviour of Some Plum Rootstocks in Romania's Conditions. *Acta Horticulturae*, 478, 235–240. DOI: 10.17660/ActaHortic.1998.478.36.
- Botu, I., Botu, M., Achim, G., Baci, A. (2008). Plum culture in Romania: Present situation and perspectives. In IX International Symposium on Plum and Prune Genetics, Breeding and Pomology 874, 365-372.
- Boyé, R., Desvignes, J.C. (1996). Biological indexing procedures for fruit tree viruses and virus-like diseases. CTIFL, Lanxade, France.

- Bradaï, F., Almagro-Bastante, J., Sánchez-Romero, C. (2023). Effect of sucrose preculture and culture inoculum density on cryopreservation of olive somatic embryos. *Scientia Horticulturae*, 322, 112385.
- Branscome, D. (1999). White Peach Scale, *Pseudaulacaspis pentagona* (Targioni) (Insecta: Hemiptera: Diaspididae), University of Florida, 2.
- Brennan, A.N. (2016). Bud-forcing and in vitro culture for conservation of oak (*Quercus* L.). University of Delaware.
- Brown, D.J.F., Halbrendt, J.M., Jones, A.T., Vrain, T.C., Robbins, R.T. (1994). Transmission of Three North American Nepoviruses by populations of four distinct species of the *Xiphinema americanum* Group. *Phytopathology* 84, 646.
- Bultreys, A., Kaluzna, M. (2010). Bacterial cankers caused by *Pseudomonas syringae* on stone fruit species with special emphasis on the pathovars *syringae* and *morsprunorum* race 1 and race 2. *Journal of Plant Pathology*, S21-S33.
- Bumbieris, M., Byrde, R. J. W., Daines, R. H. (1983). Life-history studies of three *Phytophthora* species causing crown rot of apple. *Transactions of the British Mycological Society*, 80(2), 243-257. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(83\)80124-1](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(83)80124-1)
- Burr, T.J., Otten, L. (1999). Crown gall of grape: biology and disease management. *Annual review of phytopathology*, 37.1, 53-80.
- Butac, M., Zagrai, I., Botu, M. (2008). Breeding of new plum cultivars in Romania. In IX International Symposium on Plum and Prune Genetics, Breeding and Pomology, 874, 51-58.
- Butac, M., Militaru, M., Plopa, C., Sumedrea, M. (2015). Evaluation of some new plum cultivars for fresh consumption in correlation with consumer preferences. *Fruit Growing Research*, Vol. XXXI. Ed. Invel Multimedia, Bucharest, Romania: 38-43.
- Butac, M., Militaru, M., Chitu, E., Plopa, C., Sumedrea, M., Sumedrea, D. (2019). Differences and similarities between some European and Japanese plum varieties. *Acta Horticulturae*, 1260, 129-136.
- Butac, M. (2020). Plum Breeding. In: *Prunus* (pp. 1-24). IntechOpen.
- Butac, M., Chițu, E., Militaru, M., Sumedrea, M., ..., Asănică, A., Zagrai, I., Zagrai, L., Moldovan, C., ..., Bilegan, M. (2021). *Tehnologii ecologice în pomicultură*, Invel, București, ISBN: 978-606-764-063-2.
- Çağlayan, K., Ulubas-Serce, C., Gazel, M., Varveri, C. (2011). Prune dwarf virus. In: Hadidi A., Barba M., Candresse T., Jelkmann W. editors. 2011. *Virus and virus-like diseases of pome and stone fruits*. Paul (MN): American Phytopathological Society, 199-205.
- Cai, Z., Ouyang, F., Zhang, X., Chen, J., Xiao, Y., Ge, F., Zhang, J. (2021). Biological Control of *Aphis spiraeicola* (Hemiptera: Aphididae) Using Three Different Flowering Plants in Apple Orchards. *J Econ Entomol.* 11;114(3), 1128-1137. doi: 10.1093/jee/toab064. PMID: 33834196.
- Cambra, M., Vidal, E. (2017). Sharka, a vector-borne disease caused by Plum pox virus: vector species, transmission mechanism, epidemiology and mitigation strategies to reduce its natural spread. *Acta Horticulturae*, 1163, 57-68.
- Cambra, M., Madariaga, M., Varveri, C., Çağlayan, K., Morca, A.F., Chircov, S., Glasa, M. (2024). Estimated costs of plum pox virus and management of sharka, the disease it causes. *Phytopathologica Mediterranea*, 63(3), 343-365.
- Carraro, L., Osler, R., Loi, N., Ermacora, P., Refatti, E. (1998). Transmission of European Stone Fruit Yellows *Phytoplasma* and its vector *Cacopsylla pruni*. *J. Plant Pathology*, 80, 233-239.
- Carraro, L., Loi, N., Ermacora, P. (2001). Transmission characteristics of the European stone fruit yellows phytoplasma and its vector *Cacopsylla pruni*. *European Journal of Plant Pathology*, 107(7), 695-700. <https://doi.org/10.1023/A:1011923801387>
- Carraro, L., Ferrini, F., Labonne, G., Ermacora, P., Loi, N. (2004). Seasonal infectivity of *Cacopsylla pruni*, vector of European stone fruit yellows phytoplasma. *Annals of Applied Biology*, 144(2), 191-195.

- Chauhan, R., Singh, V., Quraishi, A. (2019). In vitro conservation through slow-growth storage. In: Synthetic seeds: germplasm regeneration, preservation and prospects (pp. 397-416). Cham: Springer International Publishing.
- Cha-um, S., Kirdmanee, C. (2007). Minimal growth *in vitro* culture for preservation of plant species. Fruit Veg. Cereal Sci. Biotechnol, 1, 13-25.
- Chen, R., Jiang, W., Xu, S., Fan, H., Chen, X., Shen, X., ... Mao, Z. (2022). An emerging chemical fumigant: two-sided effects of dazomet on soil microbial environment and plant response. Environmental Science and Pollution Research, 29(2), 3022-3036.
- Chen, X.-R., Li, Q., Zhang, L., Wang, H., Zheng, X.-B. (2023). The devastating oomycete phytopathogen *Phytophthora cactorum*: Insights into its biology and molecular features. Molecular Plant Pathology, 24(9), 1017–1032. <https://doi.org/10.1111/mpp.13345>
- Cieślińska, M. (2011). European Stone Fruit Yellows Disease and Its Causal Agent '*Candidatus* Phytoplasma prunorum'. Journal of Plant Protection Research 51(4), doi.org/10.2478/v10045-011-0073-1
- Clapa, D., Fira, A. (2018). Înmulțirea plantelor prin culturi in vitro, Editura Risoprint, Cluj-Napoca.
- Clark, M., Adams, A.N. (1977). Characteristic of the microplate method of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of plant viruses. J. Gen. Virology, 34, 475-483. DOI: 10.1099/0022-1317-34-3-475.
- Cociu, V. (1993). 40 Years of plum breeding în Romania, Fruit Varieties Journal, 47(1), 43-67.
- Cociu, V., Botu, I., Minoiu, N., Pasc, I., Modoran, I. (1997). Prunul, Ed. Conphys.
- Coman, M., Plopa, C., Zagrai, L., Gavăț, C. (2022). Ghid de bune practici privind producerea plantelor mamă pomicole conform schemelor de certificare. Editura Invel Multimedia; ISBN 978-606-764-072-4.
- Cranshaw, W.S., Baxendale, B. (2005). Insect Control: Horticultural Oils (Fact Sheet No. 5.569). Colorado State University Extension.
- Cruz-Cruz, C.A., González-Arno, M.T., Engelmann, F. (2013). Biotechnology and conservation of plant biodiversity. Resources, 2(2), 73-95.
- Daayf, F. (2015). Verticillium wilts in crop plants: Pathogen invasion and host defence responses. Can. J. Plant Pathol. 37, 8–20.
- Davidson, J. Miller, D. (2005). Armoured Scale Insect Pests of Trees and Shrubs. s. 360-363.
- De Carlo, A., Benelli, C., Lambardi, M. (2000). Development of a shoot-tip vitrification protocol and comparison with encapsulation-based procedures for plum (*Prunus domestica* L.) cryopreservation. Cryo letters, 21(4), 215-222.
- Desvignes, J.C. (1999). Virus Diseases of Fruit Trees (Diseases due to Viroids, Viruses, Phytoplasmas and Other Undetermined Infectious Agents). CTIFL, Paris.
- Dhurve, L., Mathew, D., Kumar, A., Joseph, A. V., Mehara, H. (2023). Rootstocks: importance in fruit crop improvement. Int J Environ Clim Change, 13(11), 4479-4490.
- Digiario, M., Savono, V., Di Terlizzi, B. (1992). Ilarviruses in apricot and plum pollen. Acta Horticulturae, 309, 93-98.
- Dorion, N., Regnard, J.L., Serpette, I., Bigot, C. (1994). Effects of temperature and hypoxic atmosphere on preservation and further development of in vitro shoots of peach ('Armking') and peach× almond hybrid ('GF 677'). Scientia horticulturae, 57(3), 201-213.
- Dosba, F., Lansac, M., Mazy, K., Garnier, M., Eyquard, J.P. (1990). Incidence of different diseases associated with Mycoplasma Like Organisms in different species of *Prunus*. Acta Hort. 283, 311–320.

- Dunez, J., Delbos, R., Desvignes, J.C., Marenaud, C., Kuszala, J., Vuittenez, A. (1971). Mise en évidence d'un virus de type ring spot sur *Prunus cerasifera*. *Annales de Phytopathologie (hors-série)*, 117-128.
- Dziedzic, E. (2008). Elimination of *Prunus necrotic ring spot virus* (PNRSV) from plum 'Earliblue'shoots through thermotherapy in vitro. *J Fruit Ornam Plant Res*, 16, 101-109.
- Efferth, T. (2019). Biotechnology applications of plant callus cultures. *Engineering*, 5(1), 50-59.
- El-Esawi, M.A. (2016). Micropropagation technology and its applications for crop improvement. In *Plant tissue culture: propagation, conservation and crop improvement* (pp. 523-545). Singapore: Springer Singapore.
- Engelmann, F. (1997). *In vitro* conservation methods. *Biotechnology in agriculture series*, 119-162.
- Engelmann, F. (2004). Plant cryopreservation: progress and prospects. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 40(5), 427-433.
- Engelmann, F. (2009). Encapsulation-dehydration for cryopreservation: past, present and future. In *I International Symposium on Cryopreservation in Horticultural Species*, 908, 165-171.
- Engelmann, F. (2011). Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 47(1), 5-16.
- Engelmann, F. (2012). Germplasm collection, storage, and conservation. In *Plant biotechnology and agriculture* (pp. 255-267). Academic Press.
- Engelmann, F., Dussert, S. (2012). Cryopreservation. In *Conservation of tropical plant species* (pp. 107-119). New York, NY: Springer New York.
- EPPO (2001). PM 4/30(1). Certification scheme for almond, apricot, peach and plum. *EPPO Bulletin*, 31:463-478.
- EPPO (2009). PM 4/35(1) Soil test for virus-vector nematodes in the framework of EPPO Standard PM 4 Schemes for the production of healthy plants for planting of fruit crops, grapevine, *Populus* and *Salix*. *EPPO Bulletin*, 39, 284-288.
- EPPO (2019). Evaluation of the Regulated non-quarantine pest (RNQP) status for *Phytoplasma prunorum*.
- EPPO (2020a). PM 7/62 (3) 'Candidatus *Phytoplasma mali*', 'Ca. *P. pyri*' and 'Ca. *P. prunorum*'. *EPPO Bulletin*, 50, 69-85.
- EPPO (2020b). PM 7/78 (2) *Verticillium dahliae*, *EPPO Bulletin*, 50, 462-476.
- EPPO (2021). PM 7/64. 'Xanthomonas arboricola pv. pruni'. *EPPO Bulletin* 51, 240-266.
- EPPO (2023). PM 7/32(2). Plum pox potyvirus. *EPPO Bulletin* 53, 518-539.
- EPPO (2025a). PM 7/125(2). ELISA test for viruses. *EPPO Bulletin*, 55, 66-72.
- EPPO (2025b). <https://gd.eppo.int/taxon/PPV000/distribution>
- EPPO (2026a). *Nepovirus lycopersici*. EPPO datasheets on pests recommended for regulation. <https://gd.eppo.int>
- EPPO (2026b). *Candidatus Phytoplasma prunorum*. <https://gd.eppo.int/taxon/PHYPPR/distribution>
- Erwin, D.C., Ribeiro, O.K. (1996) *Phytophthora diseases worldwide*. St. Paul, MN: The American Phytopathological Society.
- Fahy, G.M., MacFarlane, D.R., Angell, C.A., Meryman, H.T. (1984). Vitrification as an approach to cryopreservation. *Cryobiology*, 21(4), 407-426.
- FAOSTAT (2026). Food and Agriculture Organisation of the United Nations, www.fao.org/faostat/en/

- Fereres, A. (2000). Barrier crops as a cultural control measure of non-persistently transmitted aphid-borne viruses. *Virus Res.* 71(1-2):221-31. doi: 10.1016/s0168-1702(00)00200-8. PMID: 11137174.
- Feștilă, A., Zagrai, I., Mazilu, C., Baias, I. (2013). Preliminary Results Regarding the Potential of Propagation by Green Cutting of the Plum Rootstock Mirobolan BN 4 Kr. *Bulletin of the University of Agricultural Sciences & Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulture*, 70(1).
- Fulton, R.W. (1981). Ilarviruses. In: *Handbook of plant virus infections. Comparative diagnosis*. Ed. Kurstak, E., ELSEVIER. pg.377-414.
- García, J.A., Rodamilans, B., Martínez-Turiño, S., Valli, A.A., Simón-Mateo, C. Cambra, M. (2024). Plum pox virus: An overview of the potyvirus behind sharka, a harmful stone fruit disease. *Annals of Applied Biology*, 186(1), 49–75. <https://doi.org/10.1111/aab.12958>
- Garita-Cambronero, J., Palacio-Bielsa, A., Cubero, J. (2018). *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, causal agent of bacterial spot of stone fruits and almond: its genomic and phenotypic characteristics in the *X. arboricola* species context. *Molecular plant pathology*, 19(9), 2053-2065.
- Gazel, M., Caglayan, K., Serçe, Ç.U., Son, L. (2009). Evaluations of apricot trees infected by *Candidatus* Phytoplasma prunorum for horticultural characteristics. *Romanian Biotechnological Letters*, 14(1), 4123–4129.
- Gentit, P. (2006). Biological indexing of fruit tree viruses and phytoplasmas. In: *Proceedings of the European Fruit Tree Certification Workshops*.
- Gerik, J.S., Wang, D. (2008). Dose response of *Agrobacterium tumefaciens* to soil fumigants.
- Gharaghani, A., Solhjoo, S. (2021). Varietal diversification of stone fruits. In *Production technology of stone fruits* (pp. 1-56). Singapore: Springer Singapore.
- Gianní, S., Sottile, F. (2015). *In vitro* storage of plum germplasm by slow growth.
- Gildow, F.E., Damsteegt, V.D., Stone, A.L., Schneider, W.L., Luster, D.G., Levy, L. (2004). Plum pox in North America: Identification of aphid vectors and a potential role for fruit in virus spread. *Phytopathology*, 94(8), 868–874. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.8.868>
- Glasa, M., Hričovský, I., Kúdela, O. (1999). Evidence for non-transmission of Plum pox virus by seed in infected plum and myrobalan. *Biologia*, 54(4), 481–484.
- Gonsalves, D. (1995). Tomato ringspot virus. În: B. W. J. Mahy & M. H. V. van Regenmortel (eds.), *Encyclopedia of Virology*, vol. 3. Academic Press, London.
- Guan, Y., Fan, X.F., & Su, Z.H. (2016). Application of somatic embryogenesis in woody plants. *Frontiers in Plant Science*, 7, 938.
- Gull, A., Nayik, G. A., Wani, S.M., Nanda, V. (Eds.). (2022). *Handbook of plum fruit: Production, postharvest science, and processing technology*. CRC Press.
- Gull, I., Noreen, A., Aslam, M.S., Abbas, Z., Athar, M.A. (2019). Effect of gelling matrix composition, storage conditions and capsule breakage on germination of *Rosa indica* synthetic seeds. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, 29(1).
- Gustavo A. de la Riva, González-Cabrera, J., Vázquez-Padrón, R., Ayra-Pardo, C. (1998). *Agrobacterium tumefaciens*: a natural tool for plant transformation. *Electronic journal of Biotechnology*, 1(3), 24-25.
- Hadidi A., Levy L., Podleckles E.V. (1995). Polymerase chain reaction technology in plant pathology. In: *Molecular methods in plant pathology*, CRC Press.
- Hammond R.W. (2011). *Prunus necrotic ringspot virus*. In: Hadidi A., Barba M., Candresse T., Jelkmann W., editors. 2011. *Virus and virus-like diseases of pome and stone fruits*. t. Paul (MN): American Phytopathological Society, 207-213.

- Hank, L.M., Denno, R.F. (1993). The white peach scale, *Pseudaulacaspis pentagona* (Targioni-Tozzetti) (Homoptera: Diaspididae): Life history in Maryland, host plants, and natural enemies. *Proc. Entomol. Soc. Wash.* 95, 79-98.
- Hansen, A. J., Stace-Smith, R. (1989). Antiviral chemicals for plant disease control. *Critical reviews in plant sciences*, 8(1), 45-88.
- Hartmann W., Petruschke M. (2000). Sharka resistant plums and prunes by utilization of hypersensitivity. *Acta Horticulturae*, 538:392-395.
- Hemanthakumar, A.S., Preetha, T. S. (2023). Macro-and micropropagation of plants for income generation. In *Conservation and Sustainable Utilization of Bioresources* (pp. 409-450). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Hemmati, C., Nikooei, M., Tiwari, A. K. (2023). Elimination of phytoplasmas: an effective control perspective. In *Characterization, Epidemiology, and Management* (pp. 137-146). Academic Press.
- Howland, A.D., Quintanilla, M. (2023). Plant-Parasitic Nematodes and their Effects on Ornamental Plants: A Review. *Journal of nematology*, 55(1), 20230007. <https://doi.org/10.2478/jofnem-2023-0007>
- Hoy, M.W., Mircetich, S.M. (1984). Tomato ringspot virus in stone fruit trees: wood symptoms and distribution in *Prunus* species. *Plant Disease*, 68(7), 615-618.
- Hummer, K.E. (1999). Biotechnology in plant germplasm acquisition. In *Plant conservation biotechnology* (pp. 51-66). CRC Press.
- Husseini, A., Akköprü, A. (2020). The possible mechanisms of copper resistance in the pathogen *Pseudomonas syringae* pathovars in stone fruit trees. *Phytoparasitica*, 48(5), 705-718.
- ICTV, 2022a. Species *Nepovirus cerasiferae* is a rename of *Myrobalan latent ringspot virus*. 2022.005P.Secoviridae_rename. https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202402124&taxon_name=Nepovirus%20cerasiferae
- ICTV, 2022b. Species *Nepovirus lycopersici* is a rename of *Tomato ringspot virus*. 2022.005P.Secoviridae_rename.
- ICTV, 2023a. Species *Potyvirus plumpoxi* is a rename of *Plum pox virus*. 2023.013P.Potyviridae_rename_sp. https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202404666&taxon_name=Potyvirus%20plumpoxi
- ICTV, 2023b. Species *Ilarvirus PDV* is a rename of *Prune dwarf virus*. 2023.004P.Bromoviridae_rename_sp. https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202402790&taxon_name=Ilarvirus%20PDV
- ICTV, 2023c. Species *Ilarvirus PNRSV* is a rename of *Prunus necrotic ringspot virus*. 2023.004P.Bromoviridae_rename_sp. https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202402791&taxon_name=Ilarvirus%20PNRSV
- ICTV, 2023d. Species *Ilarvirus ApMV* is a rename of *Apple mosaic virus*. 2023.004P.Bromoviridae_rename_sp. https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202402778&taxon_name=Ilarvirus%20ApMV
- ICTV, 2023e. Species *Trichovirus mali* is a rename of *Apple chlorotic leaf spot virus*. 2023.027P.Betaflexiviridae_rename. https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202402319&taxon_name=Trichovirus%20mali
- Ingrid B., Powelson, M.L. (2005). *The Plant Health Instructor*, 5, Oregon State University. DOI: 10.1094/PHI-I-2000-0801-01
- IPPC International Plant Protection Convention (2012). *Diagnostic Protocols for Regulated Pests*.
- Jakab-Ilyefalvi, Z., Pamfil, D. (2011). Results Regarding The Classical And Modern Pathogen Elimination Techniques Of Plum Pox Virus At Plum (*Prunus Domestica*, L.). *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 16(1).

- Jarausch, W., Eyquard, J.P., Mazy, K., Lansac, M., Dosba, F. (1999). High level of resistance of sweet cherry (*Prunus avium* L.) towards European stone fruit yellows phytoplasmas. *Adv. Hortic. Sci.* 1999, 13, 108–112.
- Jarausch, W., Saillard, C., Broquaire, J.M., Garnier, M., Dosba, F. (2000). PCR-RFLP and sequence analysis of a non-ribosomal fragment for genetic characterization of European stone fruit yellows phytoplasmas infecting various *Prunus* species. *Molecular and Cellular Probes*, 14(3), 171–179.
- Jarausch, W., Bisognin, C., Schneider, B., Grando, S., Velasco, R., Seemüller, E. (2011). Breeding apple proliferation-resistant rootstocks: Durability of resistance and pomological evaluation. *Bull. Insectol.* 64, S275–S276.
- Jelkmann, W. (2001). Detection of virus and virus-like diseases of fruit trees. *Acta Horticulturae* 550, 71–78. International Working Group on Fruit Tree Viruses.
- Jelkmann, W. (2004). Detection and identification of viruses, viroids and phytoplasmas in stone fruits. *Virus and Virus-Like Diseases of Pome and Stone Fruits*, APS Press, St. Paul, Minnesota.
- Jevremović, D., Vasiljević, B., Anđelić, T., Vujović, T. (2023). Effect of D and V cryo-plate methods for plum pox virus eradication from two plum cultivars. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 152(3), 529–538.
- Kaneko, S. Ozawa, A. Saito, T. Tatara, A. Katayama, H. Doi, M. (2006) Relationship between the seasonal prevalence of the predacious coccinellid *Pseudoscymnus hareja* (Coleoptera: coccinellidae) and the mulberry scale *Pseudaulacaspis pentagona* (hemiptera: Diaspididae) in tea fields: monitoring using sticky traps. 41 (4), 621–626.
- Kartha, K.K., Leung, N.L., Mroginski, L.A. (1982). *In vitro* growth responses and plant regeneration from cryopreserved meristems of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 107(2), 133–140.
- Keller, E. J., Senula, A., Leunufna, S., Grube, M. (2006). Slow growth storage and cryopreservation—tools to facilitate germplasm maintenance of vegetatively propagated crops in living plant collections. *International Journal of Refrigeration*, 29(3), 411–417.
- Keykhasaber, M., Thomma, B. P., Hiemstra, J. A. (2018). Verticillium wilt caused by *Verticillium dahliae* in woody plants with emphasis on olive and shade trees. *European journal of plant pathology*, 150(1), 21–37.
- Khafri, A.Z., Zarghami, R., Naderpour, M., Ahmadi, B., Mirzaei, L. (2022). Electrotherapy, thermotherapy, chemotherapy, and cryotherapy to regenerate *Prunus armeniaca* L. free of ACLSV, ApMV, and TRSV.
- Khafri, A.Z, Zarghami, R., Naderpour, M., Ahmadi, B., Mirzaei, L. (2024). Assessment of virus eradication methods from infected in vitro-grown apricot cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 156(2), 52.
- Khalili, M., Candresse, T., Faure, C., Brans, Y., Marais, A. (2024). Complete genome sequences of three *Prunus*-infecting nepoviruses: apricot latent ringspot virus, myrobalan latent ringspot virus, and a novel virus from smooth stone peach (*Prunus mira* Koehne). *Arch Virol.* 17,169(8):168. doi: 10.1007/s00705-024-06091-7. PMID: 39020218.
- Khan, A.S., Singh, Z., Ali, S. (2018). Postharvest biology and technology of plum. In *Postharvest biology and technology of temperate fruits* (pp. 101–145). Cham: Springer International Publishing.
- Khan, M.R. (2023). Nematode Pests of Agricultural Crops, a Global Overview. In: Khan, M.R. (eds) *Novel Biological and Biotechnological Applications in Plant Nematode Management*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-99-2893-4_1
- Kiewnick, S., Wolf, S., Frey, J. (2011). Identification of the tropical root-knot nematode species *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria* and *M. javanica* by a multiplex PCR protocol. *Phytopathology*. 101. 16. 10.1163/15685411-00002751.
- King, L., Munro, P., Xu, H., Jones, M., Forge, T. (2024). The Root-Lesion Nematode, *Pratylenchus penetrans*, Affects Early Growth and Physiology of Grafted M.9, G.41, and G.935 Apple Rootstocks Similarly Under Field Microplot Conditions. *Plant Dis.* 108(7), 1993–1999. doi: 10.1094/PDIS-10-23-2027-RE. Epub 2024 Jun 9. PMID: 38213117.

- Kison, H. Seemüller, E. (2001). Differences in strain virulence of the European stone fruit yellows phytoplasma and susceptibility of stone fruit trees on various rootstocks to this pathogen. *J. Phytopathol.* 149, 533–541.
- Klimes, A., Dobinson, K.F., Thomma, B.P.H.J., Klosterman, S.J., (2015). Genomics spurs rapid advances in our understanding of *Verticillium* biology in the post-genomic era. *Molecular Plant Pathology*, 16(5), 450–462.
- Klosterman, S.J., Atallah, Z.K., Vallad, G.E., Subbarao, K.V. (2009). Diversity, pathogenicity; and management of *Verticillium* Species. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2009, 47, 39–62.
- Korkmaz, K., Bolat, I., Uzun, A., Sahin, M., Kaya, O. (2023). Selection and molecular characterization of promising plum rootstocks (*Prunus cerasifera* L.) among seedling-origin trees. *Life*, 13(7), 1476.
- Koubouris, G.C., Maliogka, V.I., Efthimiou, K., Katis, N.I., Vasilakakis, M.D. (2007). Elimination of Plum pox virus through in vitro thermotherapy and shoot tip culture compared to conventional heat treatment in apricot cultivar Bebecou. *Journal of general plant pathology*, 73(5), 370-373.
- Kowalska, B. (2021). Management of the soil-borne fungal pathogen–*Verticillium dahliae* Kleb. causing vascular wilt diseases. *Journal of Plant Pathology*, 103(4), 1185-1194.
- Kozarzevskaia, E. Mihajlovic, L. (1983). Biological characteristics of the mulberry scale (*Pseudaulacaspis pentagona* Targ.-Tozz.) and its parasites (*Chalcidoidea*) in Belgrade, *Zastita Bilja*, 34(1), 59-75.
- Kulak, V., Longboat, S., Brunet, N.D., Shukla, M., Saxena, P. (2022). *In vitro* technology in plant conservation: Relevance to biocultural diversity. *Plants*, 11(4), 503.
- Kumar, A., Sharma, M.K., Wani, T.F., Sharma, A., Nyorak, G. (2021). Varietal wealth of prunus species. In *Prunus-Recent Advances* (pp. 1-42). IntechOpen.
- Kunkel, L.O. (1936). Heat treatment for the cure of yellows and other virus disease of peach. *Phytopathology*, 26 (9).
- Kuzmin, R. Anstett, M. Louapre, P. (2020). White Peach Scale, *Pseudaulacaspis pentagona* (Targ.) (Hemiptera: Diaspididae), is affected by host plant variety in a blackcurrant orchard, *Entomologia Generalis*, 40(4), 377-383.
- Labonne, G., Yvon, M., Quiot, J.B., Avinent, L., Llácer, G. (1995). Aphids as potential vectors of Plum pox virus: comparison of methods of testing and epidemiological consequences. *Acta Horticulturae*, 386, 207–218.
- Labonne, G., Lichou, J. (2003). Data on the life cycle of *Cacopsylla pruni*, Psyllidae vector of European stone fruit yellows (ESFY) phytoplasma, in France. In XIX International Symposium on Virus and Virus-like Diseases of Temperate Fruit Crops-Fruit Tree Diseases, 657, 465-470.
- Laimer, M., Barba, M. (2011). Elimination of systemic pathogens by thermotherapy, tissue culture, or in vitro micrografting. *Virus and virus-like diseases of pome and stone fruits*, 389-393.
- Laimer, M., Bertaccini, A. (2019). Phytoplasma elimination from perennial horticultural crops. In *Phytoplasmas: Plant Pathogenic Bacteria-II: Transmission and Management of Phytoplasma-Associated Diseases* (pp. 185-206). Singapore: Springer Singapore.
- Lambardi, M., De Carlo, A. (2003). Application of tissue culture to the germplasm conservation of temperate broad-leaf trees. In *Micropropagation of woody trees and fruits* (pp. 815-840). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Lambardi, M., Ozudogru, E.A. (2013). Advances In The Safe Storage Of Micropropagated Woody Plants At Low Temperature. *Acta Hort.* 988, 29-42 DOI: 10.17660/ActaHortic.2013.988.2
- Lamichhane, J.R. (2014). *Xanthomonas arboricola* diseases of stone fruit, almond, and walnut trees: progress toward understanding and management. *Plant Disease*, 98(12), 1600-1610.
- Laviña, A., Sabaté, J., García-Chapa, M., Batlle, A., Torres, E. (2004). Occurrence and epidemiology of European stone fruit yellows phytoplasma in Spain. *Acta Horticulturae*, 657, 489–494.

- Lee, I.M., Gundersen, D.E., Davis, R.E., Bartoszyk, I.M. (1995). Identification and classification of phytoplasmas by RFLP analysis of PCR-amplified 16S rDNA and group-specific primer pairs. USDA-ARS, Beltsville, Maryland, USA.
- Lee, H. (2023). Ex situ conservation efforts for plant diversity protection with A focus on seeds. The Open Agriculture Journal, 17(1).
- Levy, L., Hadidi, A. (1994). A simple and rapid method for processing tissue infected with Plum pox potyvirus for use with specific 3' non-coding region RT-PCR assays. EPPO Bulletin, 24, 595-604.
- Liebrechts, W.M., Sands, D.A., Bourne, A.S. (1989). Population studies and biological control of *Pseudaulacaspis pentagona* (Targioni-Tozzetti) (Hemiptera: Diaspididae) on passion fruit in Western Samoa. Bull. Entomol. Res. 1989, 79, 163-171.
- Lineros, Y., Balocchi, C., Muñoz, X., Sánchez, M., Ríos, D. (2018). Cryopreservation of *Pinus radiata* embryogenic tissue: effects of cryoprotective pretreatments on maturation ability. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 135(2), 357-366.
- Liu, S., Zheng, Y., Yu, K., Gao, S., Zhao, X., Cao, A., Han, Q. (2024). Technology for Distribution and Control of *Agrobacterium tumefaciens* in Cherry Tree Soil. Agriculture, 14(11), 1857.
- Lu, Y., Zhao, Q., Cheng, L., Zhao, L., Zhang, H., Wei, J. (2020). The potential global distribution of the white peach scale *Pseudaulacaspis pentagona* (Targioni tozzetti) under climate change. Forests, 11(2), 192.
- Lucas, G.B., Campbell, C.L., Lucas, L.T. (1992). Introduction to plant diseases: identification and management. Springer Science & Business Media.
- Luo, X., Xie, C., Dong, J., Yang, X., Sui, A. (2014). Interactions between *Verticillium dahliae* and its host: Vegetative growth, pathogenicity, plant immunity. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2014, 98, 6921-6932.
- Malumphy, C., MacLeod, A., Moran, H., Eyre, D. (2009). White Peach Scale, *Pseudaulacaspis pentagona*. Plant Pest Factsheet. Department for Environment, Food and Rural Affairs (DEFRA), UK.
- Mani, A., Muzna, S. Hinai, A., Handoo, Z. (1997). Occurrence, population density, and distribution of root-lesion nematodes, *Pratylenchus* spp., in the Sultanate of Oman. Nematropica, 27(2), 209-219.
- Marcone, C., Jarausch, B., Jarausch, W. (2010). Phytoplasma prunorum, the causal agent of European Stone Fruit Yellows: An overview. J. Plant Pathol., 92, 19-34.
- Marcone, C., Jarausch, B., Jarausch, W., Dosba, F. (2011). European Stone Fruit Zellows Phztoplasma. In: In: Hadidi A., Barba M., Candresse T., Jelkmann W. editors. 2011. Virus and virus-like diseases of pome and stone fruits. Paul (MN): American Phytopathological Society, 233-242.
- Marino, G., Rosati, P., Sagrati, F. (1985). Storage of *in vitro* cultures of *Prunus* rootstocks. Plant cell, tissue and organ culture, 5(1), 73-78.
- Marino, G., Negri, P., Cellini, A., Masia, A. (2010). Effect of carbohydrates on in vitro low-temperature storage of shoot cultures of apricot. Scientia horticultrae, 126(4), 434-440.
- Marlatt, C.L. (1902). The San Jose scale: Its native home and natural enemy, In: U.S. Dept. Agric. Yearbook of Agriculture. (ed. Hill G W), Govt. Printing Office, Washington, D.C. pp. 155-174.
- Marlatt, C.L. (1906). The San Jose or Chinese scale. U.S. Dept. Agric. Bur. Entomol. Bull. 62, 1-89.
- Marlatt, C.L. (1953). An entomologist's quest. Monumental Printing Co., Baltimore.
- Marroni, M. V., Casonato, S., Pitman, A. R., Visnovsky, S. B., Beresford, R. M., Jones, E. E. (2024). Review of *Pseudomonas* species causing bacterial canker of *Prunus* species with emphasis on sweet cherry (*Prunus avium*) in New Zealand. European Journal of Plant Pathology, 168(2), 297-314.

- Martelli, G.P., Uyemoto, J.K. (2011). Classification of pome and stone fruit viruses, viroids, and phytoplasmas. In: Hadidi A., Barba M., Candresse T., Jelkmann W., editors. Virus and virus-like diseases of pome and stone fruits. t. Paul (MN): American Phytopathological Society, 161–170.
- Martini, M., Ermacora, P., Magris, G., Ferrini, F., Loi, N. (2011). Symptom expression and 'Candidatus Phytoplasma prunorum' concentration in different species. Bull. Insectol. 64, S171–S172.
- Matsumoto, T. (2017). Cryopreservation of plant genetic resources: conventional and new methods. Reviews in Agricultural Science, 5, 13-20.
- Maxim, A., Isac, M., Zagrai, I., Papp, J. (2002). Virusologie pomicolă. Editura Ceres.
- Maxim, A., Fițiu, A., Zagrai, I., Isac, M., Papp, J. (2003). Virologia și producerea materialului săditor pomicol în agricultura ecologică. Editura Risoprint Cluj-Napoca.
- Mazeikiene, I., Kviklys, D., Siksniāniene, J. B., Zinkus, D., Stanys, V. (2019). Influence of Ribavirin on *Prunus domestica* L. regeneration, genome stability and virus eradication in vitro. In Proceedings of the Latvian Academy of Sciences, 73(3), 238-243. De Gruyter Poland.
- Mazilu, C., Duțu, I. (coord.), Achim, Gh., Ancu, S., Ancu, I., Sturzeanu, M., Coman, M., Feștilă, A., Miu, I. (2014). Ghidul pepinieristului pomicultor. București: Editura Invel Multimedia. ISBN 978-973-1886-91-6.
- Méndez-Hernández, H. A., Ledezma-Rodríguez, M., Avilez-Montalvo, R. N., Loyola-Vargas, V. M. (2019). Signaling overview of plant somatic embryogenesis. Frontiers in plant science, 10, 77.
- Meyer, R., Slater, V., Dubery, I.A. (1994). A phytotoxic protein-lipopolysaccharide complex produced by *Verticillium dahliae*. Phytochemistry, 35, 1449–1453.
- Middleton, L.A., Lawrence, N.J. (1993). The use of dazomet via the 'planting through' technique in horticultural crops. In IV International Symposium on Soil and Substrate Infestation and Disinfestation, 382, 86-95.
- Mika, A., Buler, Z., Rabcewicz, J., Bialkowski, P., Konopacka, D. (2015). Suitability of plum and prune cultivars, grown in a high density planting system, for mechanical harvesting with a canopy contact, straddle harvester. Journal of Horticultural Research, 23(2).
- Milošević, T., Milošević, N. (2018). Plum (*Prunus* spp.) breeding. In Advances in Plant Breeding Strategies: Fruits: Volume 3 (pp. 165-215). Cham: Springer International Publishing.
- Milošević, N., Milošević, T. (2023). Impact of climate change on plum (*Prunus domestica* L.). In Cultivation for Climate Change Resilience, 2, 257-278. CRC Press.
- Milutinovic, M., Nikolic, D. (1993). Genetical variability of myrobalan (*Prunus cerasifera*) seedlings. In V International Symposium on Plum and Prune Genetic, Breeding and Pomology, 359, 217-224.
- Minoiu, N. (1973a). Inactivation of virus infection from pears and cherries by heat treatment (Devirozarea părului și cireșului prin termoterapie). Analele Institutului de Cercetări pentru Protecția Plantelor, X, 11-19.
- Minoiu, N. (1973b). Producerea materialului săditor pomicol liber de viroze la Stațiunea Experimentală Pomicolă Bistrița. Buletin Informativ ASAS, p. 43-45, București.
- Minoiu, N. (1982). Thermotherapy, chemo-therapy and cobalto-therapy of viruses, micoplasmas and bacteria fruit trees. Proceeding of 4th Zonale Meeting of Transilvania and Moldova for Fruit virology, 27-31.
- Minoiu, N., Parnia, P., Bobeș I. (1982). Principles of virus indexing and the minimal woody indicators required for fruit tree viruses. Proceedings of 4th Zonale Meeting of Transilvania and Moldova for fruit virology, pp. 15-31.
- Minoiu, N., Lefter, G. (1987). Bolile și Dăunătorii Speciilor Sîmburoase, editura Ceres, București.

- Minoiu, N., Vlădianu, D., Ivan, I., Pattantyus, K., Maxim, A., Platon, I. (1994). Producerea materialului săditor pomicol liber de virusuri și micoplasme la SCPP Bistrița. Masă rotundă: Combaterea virusurilor și micoplasmelor la plantele de cultură, Bistrița, 14.09.1994, pp. 35-36.
- Minoiu, N. (1997). Bolile și dăunătorii prunului. În: Prunul. Ed. Conphys.
- Minoiu, N., Drăgan, N., Vlădianu D. (1997), Rezultate noi în selecția de soiuri și portaltoi la prun rezistente la virusul plum pox. Revista de protecția plantelor, VIII, 27.
- Minoiu, N., Vlădianu, D. (2001). Certificat privind înregistrarea portaltoiului pentru prun BN 4Kr (Certificate for the registration of plum rootstock BN 4Kr). Nr. 2085/23.11.2001. Institutul de Stat pentru Testarea și Înregistrarea Soiurilor (National Institute for Variety Testing and Registration), București.
- Mirik, M., Oksel, C., Bulbul, M. (2015). Prevalence, isolation and identification of bacterial canker pathogens on sweet cherry trees in Tekirdag. In II International Workshop on Bacterial Diseases of Stone Fruits and Nuts, 1149, 43-46.
- Mitre, V. (2002). Pomicultură Specială, Editura AcademicPres, Cluj Napoca.
- Mochizuki, T., Ohki, S.T. (2014). Detection of plant virus in meristem by immunohistochemistry and in situ hybridization. In Plant Virology Protocols: New Approaches to Detect Viruses and Host Responses (pp. 275-287). New York, NY: Springer New York.
- Moldovan, C., Roșu-Mareș, S.D., Guzu, G.M., Zagrai, L.A., Zagrai I., Chiorean, A.M., Maxim, A., (2023a). The behaviour of Some Plum Cultivars to Brown Rot Fruit Infection in Northern Transylvania, Romanian Journal of Horticulture, IV, 85-90.
- Moldovan, C., Zagrai, I., Guzu, G. M., Jakab-Ilyefalvi, Z., Zagrai, L. A., Mang, S. M., & Maxim, A. (2023b). Alternative Ecological Products for Aphid Control on Plum. Plants, 12(18), 3316.
- Morales, M.G., Denno, B.D., Miller, D.R., Miller, G.L., Ben-Dov, Y., Hardy, N.B. (2016). ScaleNet: A literature-based model of scale insect biology and systematics. Database, ID bav118.
- Murant, A.F. (1983). Seed and pollen transmission of nematode-borne viruses. Seed Science and Technology, 11, 973-987.
- Murashige, T., Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia plantarum, 15(3).
- Myrta, A., Di Terlizzi, B., Savino, V., Martelli, G.P. (2003). Virus diseases affecting the Mediterranean stone fruit industry: a decade of survey. In: Virus and Virus-like diseases of stone fruits, with particular reference to the Mediterranean regions. Myrta, A., Di Terlizzi, B., Savino, V. (eds.) Options Mediterr.Ser. B, 45, CIHEAM, 15-23.
- Myrta, A., Matic, S., Malinowski, T., Pasquini, G., Candresse, T. (2011). Apple chlorotic leaf spot virus in stone fruits. In: Hadidi A, Barba M, Candresse T, Jelkmann W, editors. Virus and virus-like diseases of pome and stone fruits. t. Paul (MN): APS Press, 85-90.
- Nabi, S.U., Mir, J.I., Yasmin, S., Din, A., Raja, W.H., Madhu, G.S.... El-Serehy HA. (2023). Tissue and Time Optimization for Real-Time Detection of Apple Mosaic Virus and Apple Necrotic Mosaic Virus Associated with Mosaic Disease of Apple (Malus domestica). Viruses. 21;15(3), 795. doi: 10.3390/v15030795.
- Nečas, T., Kiss, T., Eichmeier, A., Nečasová, J., Ondrášek, I. (2018). The effect of phytoplasma disease caused by 'Candidatus Phytoplasma prunorum' on the phenological and pomological traits in apricot trees. Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca, 46, 107-114.
- Nehra, N. S., Kartha, K.K. (1994). Meristem and shoot tip culture: requirements and applications. In Plant cell and tissue culture (pp. 37-70). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Németh, M. (1986). Virus, mycoplasma and rickettsia diseases of fruit trees. Akademiai Kiado, Budapest.

- Nester, E., Gordon, M.P., Kerr, A. (2005). *Agrobacterium tumefaciens*: from plant pathology to biotechnology.
- Neumüller M., Hartmann W., Stösser R. (2005). The hypersensitivity of European plum against *Plum pox virus* (PPV) as a promising mechanism of resistance. *Phytopathology*, 36:77-83.
- Neumüller, M. (2011). Fundamental and applied aspects of plum (*Prunus domestica*) breeding. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 5(1), 139-156.
- Ngezahayo, F., Liu, B. (2014). Axillary bud proliferation approach for plant biodiversity conservation and restoration. *International Journal of Biodiversity*, 2014(1), 727025.
- Nicolae, S., Butac, M., Chivu, M. (2024). comparative study in the nursery of vegetative plum rootstocks, 'Mirodad 1' and 'Saint Julien A'. *Scientific Papers. Series B. Horticulture*, 68(1).
- Nile, A., Kwon, Y., Nile, S. (2019). Horticultural oils: possible alternatives to chemical pesticides and insecticides, *Environmental Science and Pollution Research* vol 26.
- Nishizawa, S., Sakai, A., Amano, Y., Matsuzawa, T. (1993). Cryopreservation of asparagus (*Asparagus officinalis* L.) embryogenic suspension cells and subsequent plant regeneration by vitrification. *Plant Science*, 91(1), 67-73.
- Nodirjonovich, Y.J., Khamrakulovich, K.K., Egamberdievich, M.B., Abdushukirovich, S.B. (2020). Bioecology and phenological development of the Californian Shield (*Quadraspidiotus Perniciosus* Comst.) in Uzbekistan. *The American Journal of Agriculture and Biomedical Engineering*, 2(08), 124-131.
- O.M. 784/2016 privind cerințele specifice pentru genurile și speciile de plante fructifere menționate în anexa I la Directiva 2008/90/CE a Consiliului din 29 septembrie 2008 privind comercializarea materialului de înmulțire și plantare fructifer destinat producției de fructe, cerințele specifice pe care trebuie să le îndeplinească furnizorii și normele detaliate privind inspecțiile oficiale care intră în domeniul de aplicare al Directivei 2008/90/CE. *Monitorul Oficial, Partea I* nr. 410 din 31 mai 2016.
- O.M. 119/2020 pentru modificarea și completarea unor acte normative în domeniul calității semințelor și a materialului săditor. *Monitorul Oficial, Partea I* nr. 389 din 14 mai 2020.
- O.M. 40/2023 privind modificarea Ordinului ministrului agriculturii, pădurilor și dezvoltării rurale nr. 1.268/2005 pentru aprobarea Regulilor și normelor tehnice privind producerea, prelucrarea, controlul calității și/sau comercializarea materialului de înmulțire a plantelor ornamentale, precum și pentru modificarea și completarea Ordinului ministrului agriculturii și dezvoltării rurale nr. 784/2016 privind cerințele specifice pentru genurile și speciile de plante fructifere menționate în anexa I la Directiva 2008/90/CE a Consiliului din 29 septembrie 2008 privind comercializarea materialului de înmulțire și plantare fructifer destinat producției de fructe, cerințele specifice pe care trebuie să le îndeplinească furnizorii și normele detaliate privind inspecțiile oficiale care intră în domeniul de aplicare al Directivei 2008/90/CE. *Monitorul Oficial* nr. 128 din 15 februarie 2023.
- O.M. 92 /2025 pentru modificarea Ordinului ministrului agriculturii și dezvoltării rurale nr. 784/2016 privind cerințele specifice pentru genurile și speciile de plante fructifere menționate în anexa I la Directiva 2008/90/CE a Consiliului din 29 septembrie 2008 privind comercializarea materialului de înmulțire și plantare fructifer destinat producției de fructe, cerințele specifice pe care trebuie să le îndeplinească furnizorii și normele detaliate privind inspecțiile oficiale care intră în domeniul de aplicare al Directivei 2008/90/CE. *Monitorul Oficial* nr. 247 din 21 martie 2025.
- Okie, W.R., Hancock, J.F. (2008). Plums. In *Temperate Fruit Crop Breeding: Germplasm to Genomics* (pp. 337-358). New York: Springer.
- Olmos, A., M. Cambra, M.A. Dasi, T. Candresse, O. Esteban, M.T. Gorris, M. Asenio (1997). Simultaneous detection and typing of plum pox potyvirus (PPV) isolates by heminested-PCR and PCR-ELISA. *Journal Virol. Methods*. 68, 127-137.
- Olson, B.D., Jones, A.L. (1983). Reduction of *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* on Montmorency sour cherry with copper and dynamics of the copper residues. *Phytopathology*, 73(11), 1520-1525.

- Oseni, O.M., Pande, V., Nailwal, T.K. (2018). A review on plant tissue culture, a technique for propagation and conservation of endangered plant species. *International journal of current microbiology and applied sciences*, 7(7), 3778-3786.
- Ozudogru, E.A., Benelli, C., Dradi, G., Lambardi, M. (2017). Effect of culture container and carbohydrate content on in vitro slow growth storage of the cherry rootstock 'Gisela® 5'. *Acta physiologiae plantarum*, 39(4), 94.
- Paleskić, C., Bachinger, K., Brader, G., Kickenweiz, M., Engel, C., Wurm, L., ... Riedle-Bauer, M. (2017). Cage and field experiments as basis for the development of control strategies against *Cacopsylla pruni*, the vector of European Stone Fruit Yellows. *Annals of Applied Biology*, 170(3), 357-368.
- Palmisano, F., Kawakubo, S., Chiumenti, M., Leonetti, P., Pantaleo, V., Candresse, T. (2025). Bayesian phylogenetic and recombination analyses of plum pox virus provide a refined vision of its evolutionary history. *Virology Journal*, 22, 319. <https://doi.org/10.1186/s12985-025-02892-7>
- Panattoni, A., Luvisi, A., Triolo, E. (2013). Elimination of viruses in plants: twenty years of progress. *Spanish journal of agricultural research*, 11(1), 173-188.
- Pánek, M., Fér, T., Mrázková, M., Tomšovský, M., Jankovský, L. (2016). Evolutionary relationships within the *Phytophthora cactorum* species complex in Europe. *Fungal Biology*, 120(8), 1014-1023. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2016.04.009>
- Parnia, P., Minoiu, N., Isac, M., Dutu, I., Cladeanu, D., Maxim, A., Roman, R., Braniste, M. (1999). Certificarea materialului saditor pomicol liber de viroze. *Rev. Prot. Plant, SNPP* 9 (35a), 7-15.
- Pasche, J.S., Taylor, R.J., David, N.L., Gudmestad, N.C. (2014). Effect of soil temperature, injection depth, and metam sodium rate on the management of *Verticillium* wilt of potato. *American Journal of Potato Research*, 91(3), 277-290.
- Pasquini, G., Barba, M. (2006). The question of seed transmissibility of Plum pox virus. *EPPO Bulletin*, 36, 287-292. DOI: 10.1111/j.1365-2338.2006.00989.x.
- Paunovic S., Paquini G., Barba M. (2011). Apple mosaic virus in stone fruits. In: *Virus and Virus-Like Diseases of Pome and Stone Fruits*. A. Hadidi et al., eds. APS Press, St. Paul, MN., 91-95.
- Pavelkova, R., Kudelkova, M., Ondrusikova, E., Eichmeier, A. (2015). Virus elimination in peach cv.'Red Haven' by chemotherapy.
- Păltineanu, C., Dumitru, S., Chițu, E., Tănăsescu, N., Butac, M., Militaru, M., Ignat, P., Mocanu, V. (2017). *Prunul și mărul în sistem sol-plantă-atmosferă în soluri cu textură medie și ușoară*, Editura Terra Nostra, Iași.
- Pérez-Caselles, C., Burgos, L., Yelo, E., Faize, L., Alburquerque, N. (2025). Production of HSVd- and PPV-free apricot cultivars by in vitro thermotherapy followed by meristem culture. *Plant Methods*, 21(1), 23.
- Perveen, S., Anis, M. (2014). Encapsulation of internode regenerated adventitious shoot buds of Indian Siris in alginate beads for temporary storage and twofold clonal plant production. *Acta physiologiae plantarum*, 36(8), 2067-2077.
- Petrzik K., Lenz O. (2011). Apple mosaic virus in pome fruits. In: *Virus and Virus-Like Diseases of Pome and Stone Fruits*. A. Hadidi et al., eds. APS Press, St. Paul, MN., 25-28.
- Pickart, A. (2011). Mechanical Control, Simberloff, D. Rejmánek, M. *Encyclopedia of biological invasions*. Berkeley, University of California Press, 3(1), 713.
- Pirkhezri, M., Fatahi Mogadam, M.R., Ebadi, E., Hassani, D., Abdoosi, V. (2014). Morphopomological study of some new Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl) cultivars grown in Iran. *International Journal of biosciences/IJB*, 5(8), 180-187.
- Poggi Pollini, C., Bissani, R., Ginchedi, L. (2001). Occurrence of European stone fruit phytoplasma (ESFYP) infection in peach orchards in Northern-Central Italy. *J. Phytopathol.* 149 (11-12), 725-730.

- Polak, J., Hauptmanova, A. (2009). Preliminary results of in vivo thermotherapy of plum, apricot and peach cultivars artificially infected with PPV-M and PPV-D strains of Plum pox virus. *Horticultural Science*, 36(3), 92-96.
- Pop, I.V. (2009). *Tratat de virologie vegetală. Vol. I. Virologie generală. Vol. III. Virusurile culturilor horticole*. Editura Printech, Bucuresti.
- Popa, S., Braghiș, A., Cumpanici, A. (2014). *Producerea prunelor. Manual tehnologic*. Chișinău. ISBN 978-9975-120-33-3.
- Popova, E., Kulichenko, I., Kim, H.H. (2023). Critical role of regrowth conditions in post-cryopreservation of in vitro plant germplasm. *Biology*, 12(4), 542.
- Rajasekharan, P.E., Sahijram, L. (2015). *In vitro* conservation of plant germplasm. In *Plant biology and biotechnology: volume II: plant genomics and biotechnology* (pp. 417-443). New Delhi: Springer India.
- Rankovic, M., Dulic-Markovic, I. (1992). Evaluation of *Prunus spinosa* as host of sharka and other viruses. *Acta Hort.*, 309, 151-156.
- Ravelonandro M., Scorza R., Callahan A., Levy L., Jacquet C., Monsion M., Damsteegt V. (2000). The use of transgenic fruit trees as a resistance strategy for virus epidemics: the plum pox (sharka) model. *Virus Research*. 71:63-69.
- Reed, B.M. (2008). Cryopreservation - practical considerations. In *Plant cryopreservation: a practical guide* (pp. 3-13). New York, NY: Springer New York.
- Renaud, R., Salesses, G., Roy, M., Bonnet, A. (1989). Development and selection of new rootstocks of *Prunus domestica*. In *IV International Symposium on Plum and Prune Genetics, Breeding and Pomology*, 283, 253-260.
- Rihan, H.Z., Kareem, F., El-Mahrouk, M.E., Fuller, M.P. (2017). Artificial seeds (principle, aspects and applications). *Agronomy*, 7(4), 71.
- Rimbaud, L., Dallot, S., Gottwald, T.R., Decroocq, V., Jacquot, E., Soubeyrand, S., Thébaud, G. (2015). Sharka epidemiology and worldwide management strategies: learning lessons to optimize disease control in perennial plants. *Annual Review of Phytopathology*, 53:357-378. DOI: 10.1146/annurev-phyto-080614-120140.
- Ružić, Đ., Vujović, T., Cerović, R. (2014). Cryopreservation of cherry rootstock Gisela 5 using vitrification procedure. *Horticultural Science*, 41(2), 55-63.
- Sakai, A., Kobayashi, S., Oiyama, I. (1990). Cryopreservation of nucellar cells of navel orange (*Citrus sinensis* Osb. var. *brasiliensis* Tanaka) by vitrification. *Plant cell reports*, 9(1), 30-33.
- Sakai, A., Engelmann, F. (2007). Vitrification, encapsulation-vitrification and droplet-vitrification: a review. *CryoLetters*, 28(3), 151-172.
- Sang, Y.L., Cheng, Z.J., Zhang, X.S. (2018). Plant stem cells and de novo organogenesis. *New phytologist*, 218(4), 1334-1339.
- Sarasan, V. (2010). Importance of *in vitro* technology to future conservation programmes worldwide. *Kew Bulletin*, 65(4), 549-554.
- Scheck, H.J., Pscheidt, J.W. (1998). Effect of copper bactericides on copper-resistant and-sensitive strains of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Plant disease*, 82(4), 397-406.
- Schneider, B., Seemüller, E., Smart, C.D., Kirkpatrick, B.C. (1995). Phylogenetic classification of plant pathogenic mycoplasma-like organisms or phytoplasmas. In: *Molecular and Diagnostic Procedures in Mycoplasma*, Vol. I, Academic Press, San Diego, pp. 369-380.
- Scholthof, K.B., Adkins, S., Czosnek, H., Palukaitis, P., Jacquot, E., Hohn, T.,Foster, G.D. (2011). Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 12, 938-954.

- Scorza R., Callahan A., Dardick C., Ravelonandro M., Polak J., Malinovski T., Zagrai I., Cambra M., Kamenova I. (2013). Genetic engineering of *Plum pox virus* resistance - 'HoneySweet' plum - from concept to product. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 115:1-12.
- Scorza, R., Ravelonandro, M., Callahan, A., Zagrai, I., Polak, J., Malinowski, T., Cambra, M., Levy, L., Damsteeght, Z., Krska, B., Cordts, J., Gonsalves, D., and Dardick, C. (2016). HoneeSweet (C5), the first genetically engineered *Plum pox virus* – resistant plum (*Prunus domestica* L.) cultivar. *HortScience*, 51 (5), 601- 603.
- Seemüller, E., Foster, J. A. (1995). European stone fruit yellows (ESFY) / apricot chlorotic leaf roll In: *Compendium of Stone Fruit Diseases*, APS Press, St. Paul, USA, pp. 59–60.
- Seemuller, E., Schneider, B. (2004). '*Candidatus Phytoplasma mali*', '*Candidatus Phytoplasma pyri*' and '*Candidatus Phytoplasma prunorum*', the causal agents of apple proliferation, pear decline and European stone fruit yellows, respectively. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2004, 54, 1217–1226.
- Seemüller, E., Moll, E., Schneider, B. (2009). Pear decline resistance in progenies of *Pyrus* taxa used as rootstocks. *Eur. J. Plant Pathol.* 2009, 123, 217–223.
- Severin, V., Iliescu, C.I. (2006) *Bolile bacteriene ale plantelor*. Ed. Gee, București
- Shaban, M. Miao, Y., Ullah, A., Khan, A.H., Ahmed, M.M., Tabassum, M.A., Zhu, L. (2018). Physiological and molecular mechanism of defense in cotton against *Verticillium dahliae*. *Plant Physiol. Biochem.* 125, 193–204.
- Sharma, M., Devi, S., Chand, S. (2025). Biocontrol strategies for sustainable management of root-knot nematodes. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 136, 102548.
- Shatnawi, M. A., Shibli, R., Qrunfleh, I., Bataineh, K., Obeidat, M. (2007). In vitro propagation and cryopreservation of *Prunus avium* using vitrification and encapsulation dehydration methods. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 5(2), 204.
- Shuo, L.I.U., Ming, X.U., JiaCheng, L.I.U., XiaoXue, M.A., Ning, L.I.U., HaiJuan, Z.H.A.O., WeiSheng, L.I.U. (2023). An overview of the worldwide plum breeding. *Scientia Agricultura Sinica*, 56(9), 1744-1759.
- Singh, R., Jadhav, S., Kashyap, P. K. (2024). Chapter-5 Cultivation of Plum. *Practices Research*, 71.
- Slobounikoff, C., Zahradník, P., Mráz, P. (2019). Phytophthora root and collar rots in fruit orchards in the Czech Republic. *Phytopathologia Mediterranea*, 58(2), 311–330.
- Snaddon, J., Petrokofsky, G., Jepson, P., Willis, K. J. (2013). Biodiversity technologies: tools as change agents. *Biology Letters* 9, 20121029. <http://dx.doi.org/10.1098/rsbl.2012.1029>
- Soliman, H.I. (2013). Cryopreservation of in vitro-grown shoot tips of apricot (*Prunus armeniaca* L.) using encapsulation-dehydration. *African Journal of Biotechnology*, 12(12).
- Sottile, F., Caltagirone, C., Giacalone, G., Peano, C., Barone, E. (2022). Unlocking plum genetic potential: where are we at?. *Horticulturae*, 8(2), 128.
- Stannard, K. (2019). Measuring the survival of White Peach Scale (*Pseudaulacaspis pentagona*) on kiwifruit (*Actinidia chinensis* var. *deliciosa* 'Hayward') in coolstorage in Italy, *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 47, 3.
- Stanton B.G. (2018). *Agrobacterium Biology From Basic Science to Biotechnology*, edit., Springer. ISBN-uri: 9783030032562
- Stănică, F. (2004). *Microînmulțirea speciilor horticole*, Editura Invel Multimedia, București.
- Stănică, F., Zagrai, I., Feștilă, A., Zuccherelli, G., Zuccherelli, K., Neri, D., Murri, G., Massetani, F., Zagrai, L., Platon, I. (2019). Propagation and field tests of 'BN 4 Kr' - a promising sharka resistant rootstock. *Acta Hort.* 1260, 203-208.

- Steffek, R., Follak, S., Sauvion, N., Labonne, G., MacLeod, A. (2012). Distribution of 'Candidatus Phytoplasma prunorum' and its vector *Cacopsylla pruni* in European fruit-growing areas: a review. *EPPPO Bulletin*, 42(2), 191-202.
- Stoddard, E.M. (1942). Inactivating in vivo the virus of X-disease of Peach by chemotherapy. Connecticut Agricultural Experimental Station New Heaven. *Bulletin* 506, 3-18.
- Stoddard, E.M., Dimond, A.E. (1949). The chemotherapy of plant diseases. *The Botanical Review*, 15(6), 345-376.
- Strîmbu (Vlașin), L.D., Zagrai, L.A., Jakab-Ilefalvi, Z., Zagrai, I., Guzu, G.M., Cordea, M.I. (2025). Towards *in vitro* conservation of several plum cultivars (*Prunus domestica* L.). *Scientific Papers. Series B Horticulture*, LXIX (1), 207-214.
- Sujatha, G., Kumari, B.R. (2008). Micropropagation, encapsulation and growth of *Artemisia vulgaris* node explants for germplasm preservation. *South African Journal of Botany*, 74(1), 93-100.
- Szabó, L.K., Desiderio, F., Kirilla, Z., Hegedűs, A., Várallyay, É., Preininger, É. (2024a). A mini-review on in vitro methods for virus elimination from *Prunus* sp. fruit trees. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 156(2), 42.
- Szabó, L.K., Desiderio, F., Kirilla, Z., Hegedűs, A., Várallyay, É., Preininger, É. (2024b). Elimination of Cherry virus A from *Prunus domestica* 'Besztercei Bt. 2' using in vitro techniques. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 157(2), 45.
- Şekerli, M. (2024). Season, thermotherapy and surface sterilization play important roles in microbial contamination of hazelnut in vitro cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 157(3), 70.
- Ştefan, N., Glăman, G., Braniște, N., Stănică, F., Duțu, I., Coman, M. (2018). *Pomologia României – soiuri noi de măr, păr, gutui, cireș, vișin, prun și cais, create în România*, Editura Ceres, București.
- Talavera-Rubia, M., Vela-Delgado, M. D., Verdejo-Lucas, S. (2022). A cost-benefit analysis of soil disinfestation methods against root-knot nematodes in mediterranean intensive horticulture. *Plants*, 11(20), 2774.
- Talboys, P.W. (1958). Association of tylosis and hyperplasia of the xylem with vascular invasion of the hop by *Verticillium albo-atrum*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 41, 249-260.
- Tapia-Vázquez, I., Montoya-Martínez, A. C., los Santos-Villalobos, D., Ek-Ramos, M. J., Montesinos-Matías, R., Martínez-Anaya, C. (2022). Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) threaten agriculture in Mexico: Biology, current control strategies, and perspectives. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 38(2), 1-18.
- Taylor, R.A. (2019). *Taylor's power law: order and pattern in nature*. Academic Press.
- Taylor, R.J., Pasche, J.S., Gudmestad, N.C. (2005). Influence of tillage and method of metam sodium application on distribution and survival of *Verticillium dahliae* in the soil and the development of *Verticillium* wilt of potato. *American Journal of Potato Research*, 82(6), 451-461.
- Temple, S.H., DeVay, J., Forrester, L.L. (1973). Temperature effects upon development and pathogenicity of defoliating and nondefoliating pathotypes of *Verticillium dahliae* in leaves of cotton plants. *Phytopathology*, 63, 953-958.
- Termorshuizen, A.J., Walter, G. (2003). Morphology of *Verticillium dahliae* and *V. tricorpus* on semi-selective media used for the detection of *V. dahliae* in soil. *Mycological Research*, 107(7), 822-830.
- Thanuja, K., Arulmozhiyan, R., Saraswathi, M.S., Selvarajan, R., Jegadeeswari, V., Rajanbabu, V. (2025). A comprehensive review on in vitro therapies for virus elimination and novel methods for virus protection in key horticultural crops. *Planta*, 262(1), 15.
- Thébaud, G., Yvon, M., Labonne, G., Barthes, M., Manceau, C. (2006). Role of *Prunus* wild hosts in the epidemiology of European stone fruit yellows. *Annals of Applied Biology*, 148(2), 159-170.

- Thébaud, G., Yvon, M., Labonne, G., Alary, R. (2008). European Stone Fruit Yellows: Consequences of the Life Cycle of the Vector and of the Multiplication of the Phytoplasma in the Insect on the Epidemiology of the Disease. *Acta Horticulturae*, 781, 423–430.
- Thomas, H.E., Hildebrand, E.M. (1936). *Phytopathology* 26, 1145-1148.
- Toorani, A.H., Abbasipour, H., Dehghan-Dehnavi, L. (2019). Biodiversity and population fluctuations of parasitoids of the white peach scale, *Pseudaulacaspis pentagona* (Targioni-Tozzetti) (Hemiptera: Diaspididae), in kiwifruit orchards in Northern Iran. *Hell. Plant Prot. J.* 12, 12–21.
- Topp, B.L., Russel, D.M., Neumüller, M., Dalbo, M.A., Liu, W. (2012). Plum. Chapter 15. In “Fruit Breeding”. Edited by Marisa Luisa Badenes, David H. Byrne. Ed. Springer, 571–621.
- Torres, E., Bertolini, E., Cambra, M., Monton, M., Martin, M.P. (2005). Real-time PCR for simultaneous and quantitative detection of quantitative phytosplasmas from apple proliferation (16SrX) group. *Mol. Cell. Probes* 19,334-340.
- Towill, L.E. (2002). Cryopreservation of plant germplasm: introduction and some observations. In *Cryopreservation of plant germplasm II* (pp. 3-21). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Trandafirescu, M., Plopa, C., Trandafirescu, I. (2011). Symptomatology detection and biochemical changes of the trees infected by apricot chlorotic leafroll phytoplasma. *Bulletin of Insectology*, 64 (Supplement), S165–S166.
- Trempešić, G., Zezulová, E., Nečas, T., Šnurkovič, P., Kiss, T. (2025). Influence of *Candidatus* Phytoplasma prunorum on primary and secondary metabolites of apricots. *Plant Protection Science*, 61(3), 242–254.
- Turdiyev, T.T., Kovalchuk, I.Y., Kabyrbekova, B.Z., Chukanova, N.I., Frolov, S.N. (2020). *In vitro* germplasm cold storage of fruit and berry plants of Kazakhstan. *Eurasian Journal of Biosciences*, 14(1).
- Uğur, R. (2025). Evaluation of suitable rootstock and key criteria for rootstock breeding in *Prunus* species. *Applied Fruit Science*, 67(6), 475.
- Ülgentürk, S., Çanakçıoğlu, H. (2004). Scale insect pests on ornamental plants in urban habitats in Turkey. *J. Pest. Sci.* 2004, 77, 79–84.
- Umer, M., Liu, J., You, H., Xu, C., Dong, K., Luo, N., ... Xu, W. (2019). Genomic, Morphological and Biological Traits of the Viruses Infecting Major Fruit Trees. *Viruses*, 11(6), 515. <https://doi.org/10.3390/v11060515>
- Utkhede, R.S., Smith, E.M. (1991). Effects of fosetyl-Al, metalaxyl, and *Enterobacter aerogenes* on crown and root rot of apple trees caused by *Phytophthora cactorum* in British Columbia. *Plant Disease*, 75(4), 406–409. <https://doi.org/10.1094/PD-75-0406>
- Van Duyn, J. Murphey, M. (1971). Life History and Control of White Peach Scale, *Pseudaulacaspis pentagona* (Homoptera: Coccoidea), *The Florida Entomologist*, 54(1), 91-95.
- Vidal, E., Zagrai, L., Milusheva, S., Bozhkova, V., Tashevaterzieva, E., Kamenova, I., Zagrai, I., Cambra, M. (2013). Horticultural mineral oil treatments in nurseries during aphid flights reduce Plum pox virus incidence under different ecological conditions. *Ann Appl Biol.* 162, 299-308.
- Vidal, E., Zagrai, L., Malinowski, T., Soika, G., Warabieda, W., Tasheva-Terzieva, E., Milusheva, S., Zagrai, I.,..... Cambra, M. (2020). Statistical model for Plum pox virus prediction in *Prunus* nursery blocks using vector and virus incidence data in four different European ecological areas. *Ann Appl Biol.* 177, 308-324. doi:10.1111/aab.12617.
- Vlaşin, L.D., Zagrai, L.A., Zagrai, I., Guzu, G.M., Catană, C., Cordea, M.I. (2025a). A First Step in Short-Term Conserving Nuclear-Stock Plum via Seed Encapsulation. *BUASVM Horticulture*, 82(2), 120-130.
- Vlaşin, L.D., Jakab-Ilyefalvi, Zs., Zagrai, I., Zagrai, L.A. (2025b). The response of myrobalan BN 4 Kr rootstock (*Prunus cerasifera* Ehrh.) to *in vitro* micropropagation under specific phytohormones combination, *Acta Horticulturae*. 1439, 267-274.

- Vlașin, L.D., Zagrai, L.A., Zagrai, I., Cordea, M.I. (2026). Slow-growth *in vitro* conservation: A sustainable approach for preserving *Prunus domestica* L. autochthonous genotypes. International Horticultural Congress, Kyoto, 23-28 August 2026, Book of Abstract, S01-P-32.
- Vujović, T., Sylvestre, I., Ružić, D., Engelmann, F. (2011). Droplet-vitrification of apical shoot tips of *Rubus fruticosus* L. and *Prunus cerasifera* Ehrh. *Scientia Horticulturae*, 130(1), 222-228.
- Vujović, T., Chatelet, P., Ružić, Đ., Engelmann, F. (2015). Cryopreservation of *Prunus* spp. using aluminium cryo-plates. *Scientia Horticulturae*, 195, 173-182.
- Vujović, T., Jevremović, D., Marjanović, T., Ružić, Đ. (2021). Cryopreservation of Serbian autochthonous plum 'Crvena Ranka' using aluminium cryo-plates. *Genetika*, 53(1), 283-294.
- Vujović, T., Anđelić, T., Vasiljević, B., Jevremović, D., Engelmann, F. (2023). Cryopreservation of indigenous plums and monitoring of multiplication and rooting capacity of shoots obtained from cryopreserved specimens. *Plants*, 12(17), 3108.
- Walkowiak-Tomczak, D. (2008). Characteristics of plums as a raw material with valuable nutritive and dietary properties-a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 58(4).
- Wang, P.J., Charles, A. (1991). Micropropagation through meristem culture. In *High-Tech and Micropropagation I* (pp. 32-52). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Wang, M.R., Cui, Z. H., Li, J.W., Hao, X.Y., Zhao, L., Wang, Q.C. (2018). *In vitro* thermotherapy-based methods for plant virus eradication. *Plant methods*, 14(1), 87.
- Wang, M.R., Lambardi, M., Engelmann, F., Pathirana, R., Panis, B., Volk, G.M., Wang, Q.C. (2021). Advances in cryopreservation of in vitro-derived propagules: Technologies and explant sources. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 144(1), 7-20.
- Wang, M.R., Bi, W.L., Bettoni, J.C., Zhang, D., Volk, G.M., Wang, Q.C. (2022). Shoot tip cryotherapy for plant pathogen eradication. *Plant Pathology*, 71(6), 1241-1254.
- Wangchu, L., Angami, T., Mandal, D. (2021). Plum. In *Temperate Fruits* (pp. 297-331). Apple Academic Press.
- Wenneker, M., Meijer, H., Maas, F.M., de Bruine, A., Vink, P., Pham, K. (2012). Bacterial canker of plum trees (*Prunus domestica*), caused by *Pseudomonas syringae* pathovars, in the Netherlands. In *X International Symposium on Plum and Prune Genetics, Breeding and Pomology*, 985, 235-239.
- Wesemael, W., Viaene, N., Moens, M. (2011). Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Europe. *Nematology*, 13, 3-16. 10.1163/138855410X526831.
- Wetzel, T., Candresse, T., Ravelonandro, M., Dunez, J. (1991). A polymerase chain reaction assay adapted to plum pox potyvirus detection. *Journal of Virological Methods*, 33, 355-365.
- Wetzel T., Candresse T., Macquire G., Ravelonandro M., Dunez J. (1992). A highly sensitive immunocapture polymerase chain reaction method for Plum pox potyvirus detection. *Journal of Virology Methods*, 39, 27-37.
- Wilhelm, S. (1955). Longevity of the *Verticillium* wilt fungus in the laboratory and field.
- Yadav, S., Priya, K., Dhiman, R., Godara, S., Kandari, P., Thakur, A. (2024). Long-and medium-term storage of germplasm for conservation of tree species. In *Biotechnological Approaches for Sustaining Forest Trees and Their Products* (pp. 241-275). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Yang, X., Tyler, B.M., Hong, C. (2017). An expanded phylogeny for the genus *Phytophthora*. *PLOS ONE*, 12(4), e0176189.
- Yoshikawa, N. (2001). Apple chlorotic leaf spot virus. *CMI AAB Description of Plant Viruses*, 386.

- Yvon, M., Labonne, G., Thébaud, G. (2004). Survival of European Stone Fruit Yellows Phytoplasma Outside Fruit Crop Production Areas: A Case Study in Southeastern France. *Acta Horticulturae*, 657, 477-481.
- Zagrai, I., Capote, N., Ravelonandro, M., Cambra, M., Zagrai, L., Scorza, R. (2008). Plum pox virus silencing of C5 transgenic plums is stable under challenge inoculation with heterologous viruses. *Journal of Plant Pathology*, 90(1), 63-71.
- Zagrai, I., Ravelonandro, M., Zagrai, L., Scorza, R., Minoiu, N. (2011). Overview of the investigations of transgenic plums in Romania. *Acta Hort.*, 899, 153-158.
- Zagrai, I., Zagrai, L., Festila, A., Baias, I., Clapa, D., Ion, L. Pop, R. (2013). Implementation of Certification Standards for Obtaining Nuclear-Stock Plum Material in Romania. *Acta Hort. (ISHS)* 981, 493-499.
- Zagrai, I., Feștilă, A., Zuccherelli, G., Zuccherelli, K., Neri, D., Murri, G., ... Stănică, F. (2016). Propagation and field tests of 'BN 4 Kr'-a promising sharka resistant rootstock. In XI International Symposium on Plum and Prune Genetics, Breeding and Pomology, 1260, 203-208.
- Zagrai, I., Zagrai, L.A., Ravelonandro, M., Scorza, R., Jakab, Z., Guzu, G. (2020). Assessment on the potential decrease of insecticide treatments against aphids in 'HoneySweet' plum (*Prunus domestica* L.) plantings. *Acta Horticulturae*, 1269, 185-190.
- Zagrai, I., Zagrai, L., Moldovan, C., Guzu, G., Roșu-Mareș, S., Plopa, C., Butac, M. (2022). Managementul integrat în prevenirea bolilor virotice la speciile prun și cireș. Editura Născut Liber, Bistrița.
- Zagrai, I., Zagrai, L., Guzu G. (2023). Honeysweet Transgenic Plum Has A Neutral Effect On Diversity And Dynamics Aphid Population Under Temperate Continental Climate Conditions. *Fruit Growing Research*, 39, 120-127.
- Zagrai L., Zagrai I., Festila A. (2010). Monitoring of Aphid Species Landing in Prunus Nursery Plot from Bistrita Area. *Bulletin UASVM, Horticulture* 67(1-2), 489. ISSN 1843-5254.
- Zagrai, L., Zagrai, I., Isac, V., Plopa, C., Baias, I. (2013). New results for obtaining nuclear-stock plum material. *Analele Universitatii din Craiova Seria Biologie, Horticultura, Tehnologia Prelucrării Produselor Agricole, Ingineria Mediului*, XVII (LIV), 365-370.
- Zagrai, L., Zagrai, I. (2020). Further evidence of durable resistance in HoneySweet transgenic plum under natural infection with D and Rec strains of Plum pox virus. *Scientific Papers. Series B, Horticulture*. LXIV(1), 204-209.
- Zagrai, L., Zagrai, I., Guzu, G. (2020). Evaluation of some *Prunus* rootstocks to natural infection to Plum pox virus in endemic area. *Acta Hort.* 1269, 97-104. DOI: 10.17660/ActaHortic.2020.1269.13. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2020.1269.13>
- Zagrai, L., Zagrai, I., Scorza, R., Ravelonandro, M., Dardick, C., Guzu, G. (2021). Assessment of agronomic performance of PPV resistant 'HoneySweet' transgenic plum in ecological conditions of the Northern Romania. *Romanian Journal of Horticulture*, II, 2021, 49-56.
- Zagrai L., Zagrai I., Vlașin, L. (2024). Implementarea noii legislații privind certificarea materialului de înmulțire din categoriile biologice superioare la specia prun la SCDP Bistrița. *BDIH-fil BN*, 44, 22-28.
- Zagrai, L., Zagrai, I. (2025). A new Romanian *Prunus domestica* L. cultivar exhibiting high tolerance to natural infections to plum pox virus. *Romanian Journal of Horticulture*, VI: 149-158.
- Zagrai L., Zagrai I., Vlașin L., Moldovan C., Guzu G. (2025a). Assessment of different plum cultivar responses to late spring frost in north-east of Transylvania. *Lucrări Științifice Seria Horticultură, USV Iași*, 68 (1/2), 76-90.
- Zagrai, L., Zagrai, I., Vlașin, L. (2025b). Contribuția SCDP Bistrița la eficientizarea sistemului de producere a materialului săditor pomicol din categoriile biologice superioare. În: 75 de ani de activitate științifică și progres tehnologic la SCDP Bistrița, 1950-2025. Editura Născut Liber, Bistrița, pg. 67-97.

Zagrai L., Zagrai I., Guzu G., Moldovan C. (2026a). Natural plum pox virus infection in plum: five-year field assessment of genotypic response. International Conference "Agriculture for Life, Life for Agriculture", 4-6 June, 2026, Book of Abstract, pp. 72. Scientific Papers. Series B, Horticulture, LXX(1).

Zagrai, L., Zagrai, I., Vlașin, L., Moldovan C., Guzu G. (2026b). Integrated Certification System for *Prunus domestica* L. in the Context of the New European Legislative Framework in Romania. International Horticultural Congress, Kyoto, 23-28 August 2026, Book of Abstract, S23-6-03.

www.icdp.ro

www.scdp-bistrita.ro



Drumul Dumitrei Nou, nr. 3, 420100, jud. Bistrița-Năsăud

Tel. +40 263-217.895

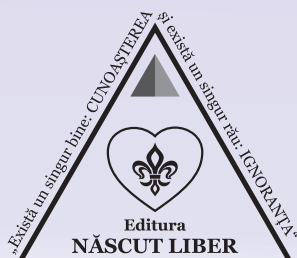
Email. scdp.bistrita@asas.ro



www.scdp-bistrita.ro



www.facebook.com/scdp.bistrita.ro



978-606-95989-9-3