

Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în proiect în anul 2025

Cifra proiectului 25.80012.7007.30SE

Denumirea Proiectului **Selectarea și multiplicarea biotehnologică a genotipurilor valoroase de stejar pufos (*Quercus pubescens* Willd.) pentru reconstrucția ecologică a pădurilor din Moldova**
Rezumat în limba română pentru anul 2025

Stejarul pufos (*Quercus pubescens* Willd.) reprezintă o specie forestieră prioritară pentru sudul Republicii Moldova, datorită toleranței sale ridicate la secetă și capacității de adaptare la condiții climatice extreme. Totuși, regenerarea naturală a populațiilor locale este afectată de degradarea habitatelor, izolarea genetică și presiunea accentuată a stresului abiotic, ceea ce impune dezvoltarea unor metode moderne de conservare și multiplicare. În acest context, studiul de față a urmărit evaluarea răspunsului embrionilor din ghinde imature la diferite variante de mediu nutritiv *in vitro*, în vederea stabilirii unor protocoale specifice pentru inițierea liniilor clonale. Materialul biologic a provenit din trei genotipuri distincte, colectate din două localități (Cărpineni I, Cărpineni II și Băiuș), iar explantele au fost cultivate pe nouă variante de medii WPM și MS, diferențiate prin concentrația totală de macro-săruri ($1\times$ sau $\frac{1}{2}\times$), concentrația de zaharoză (30 și 20 g/L), formula hormonală (BA-IBA sau BA-NAA), precum și prezența antioxidantilor (acid ascorbic, PVP) sau a cărbunelui activ.

Rezultatele au evidențiat diferențe clar conturate între genotipuri. Genotipul Cărpineni I a demonstrat cea mai mare toleranță la mediile bogate în macro-săruri, obținând procente maxime de 40–60% plantule dezvoltate pe MS1 și MS2. În schimb, genotipurile Cărpineni II și Băiuș au răspuns optim pe mediile diluate WPM3 și WPM4, cu nivele reduse ale macro-sărurilor și doze hormonale inferioare (BA 0,2 + NAA 0,05), iar varianta WPM4, cu zaharoză redusă, a diminuat brunificarea explantelor și stresul osmotic.

Analiza fiziologică indică faptul că răspunsul embrionilor a fost puternic influențat de concentrația totală a sărurilor și de presiunea osmotică determinată de zaharoză. Mediile bogate ($1\times$) au favorizat dezvoltarea embrionilor cu metabolism intens, în timp ce mediile diluate ($\frac{1}{2}\times$) au oferit condiții blânde pentru explantele sensibile, prevenind acumularea excesivă de apă, dezechilibrul ionic și daunelor oxidative. Compușii antioxidanți au contribuit substanțial la reducerea brunificării, fiind eficienți mai ales la genotipurile tolerante.

Un rezultat deosebit de important este obținerea embrioizilor somatici exclusiv pe mediul MS0, lipsit de regulatori de creștere și suplimentat cu cărbune activ. Această observație sugerează declanșarea proceselor de reprogramare somatică în condiții de stimulare hormonală minimă și stabilitate redox ridicată, deschizând perspective promițătoare pentru dezvoltarea protocoalelor de embriogeneza somatică la *Q. pubescens*.

În ansamblu, rezultatele confirmă necesitatea unei abordări diferențiate, adaptate fiecărui genotip, pentru inițierea culturilor *in vitro*. Plantulele obținute și embrioizii somatici vor constitui baza biologică a liniilor clonale individuale, esențiale pentru multiplicarea materialului inițial selectat în teren și pentru programele viitoare de refacere forestieră în habitate degradate.

Rezumat în limba engleză pentru anul 2025

Downy oak (*Quercus pubescens* Willd.) represents a priority forest species in the southern region of the Republic of Moldova, due to its high drought tolerance and remarkable capacity to adapt to extreme climatic conditions. However, the natural regeneration of local populations is increasingly constrained by habitat degradation, genetic isolation and the growing pressure of abiotic stress, which calls for the development of modern methods of conservation and propagation. In this context, the present study aimed to assess the response of embryos derived from immature acorns to different *in vitro* culture media formulations, with the objective of establishing optimized protocols for the initiation of clonal lines.

The biological material originated from three distinct genotypes collected from two localities (Cărpineni I, Cărpineni II and Băiuș), and explants were cultivated on nine variants of WPM and MS media, differentiated by total macro-salt concentration ($1\times$ or $\frac{1}{2}\times$), sucrose concentration (30 or 20 g/L), hormonal formula (BA–IBA or BA–NAA), as well as the presence of antioxidants (ascorbic acid, PVP) or activated charcoal.

The results revealed clear differences among genotypes. Cărpineni I demonstrated the highest tolerance to media enriched in macro-salts, achieving maximum values of 40–60% developed plantlets on MS1 and MS2. In contrast, the genotypes Cărpineni II and Băiuș responded optimally on diluted media (WPM3 and WPM4), characterized by reduced macro-salt content and lower hormone levels (BA 0.2 + NAA 0.05), while WPM4—with lower sucrose levels—effectively decreased explant browning and osmotic stress.

Physiological assessment indicated that embryo performance was strongly influenced by total salt concentration and sucrose-induced osmotic pressure. Full-strength ($1\times$) media promoted the development of embryos with high metabolic activity, whereas half-strength ($\frac{1}{2}\times$) media offered gentler conditions for sensitive explants, preventing excessive water uptake, ionic imbalance and oxidative damage. Antioxidant compounds contributed significantly to mitigating browning, particularly within tolerant genotypes.

A particularly important finding is the exclusive induction of somatic embryos on MS0 medium, which lacked growth regulators and contained activated charcoal. This observation suggests the activation of somatic reprogramming pathways under minimal hormonal stimulation and enhanced redox stabilization, opening promising perspectives for the advancement of somatic embryogenesis protocols in *Q. pubescens*.

Overall, the results confirm the necessity of a differentiated, genotype-adapted approach for the initiation of *in vitro* cultures. The plantlets obtained, together with the somatic embryos, will constitute the biological foundation for individual clonal lines, essential for the propagation of elite field-selected genotypes and for future forest restoration programs in degraded habitats.

Conducătorul de proiect

Data:

LȘ



Tatiana CĂLUGĂRU-SPĂȚĂR