

**UNIVERSITATEA PENTRU ȘTIINȚELE VIETII
„ION IONESCU DE LA BRAD” DIN IAȘI
FACULTATEA DE AGRICULTURĂ
ȘCOALA DOCTORALĂ DE ȘTIINȚE INGINEREȘTI
DOMENIUL DE DOCTORAT AGRONOMIE
SPECIALIZAREA PROTECȚIA PLANTELOR**

TEZĂ DE DOCTORAT

Conducător de doctorat,

Prof. univ. dr. Eugen ULEA

Doctorand,

Ing. Drd. Costinela PATROLEA
(ATODIRESEI)

IAȘI, 2023

**”ION IONESCU DE LA BRAD” UNIVERSITY OF LIFE
SCIENCES, IAȘI**

FACULTY OF AGRICULTURE

DOCTORAL SCHOOL OF ENGINEERING SCIENCES

DOMAIN AGRONOMY

SPECIALIZATION PHYTOPATOLOGY

DOCTORAL THESIS

PhD Coordinator,

PhD, Prof. Eugen ULEA

PhD Student, Eng.

Costinela PATROLEA
(ATODIRESEI)

IAȘI, 2023

UNIVERSITATEA PENTRU ȘTIINȚELE VIETII
„ION IONESCU DE LA BRAD” DIN IAȘI
ACULTATEA DE AGRICULTURĂ
ȘCOALA DOCTORALĂ DE ȘTIINȚE INGINEREȘTI
DOMENIUL DE DOCTORAT AGRONOMIE
SPECIALIZAREA PROTECȚIA PLANTELOR

TEZĂ DE DOCTORAT
STUDII PRIVIND INFLUENȚA
TRATAMENTELOR FITOSANITARE ASUPRA
DIVERSITĂȚII ȘI DISTRIBUȚIEI LEVURILOR
ÎN CONDIȚIILE CENTRULUI VITICOL IAȘI

Conducător de doctorat,

Prof. univ. dr. Eugen ULEA

Doctorand,

Ing. Drd. Costinela PATROLEA
(ATODIRESEI)

IAȘI, 2023

**”ION IONESCU DE LA BRAD” UNIVERSITY OF LIFE
SCIENCES, IAȘI**

FACULTY OF AGRICULTURE

DOCTORAL SCHOOL OF ENGINEERING SCIENCES

DOMAIN AGRONOMY

SPECIALIZATION PHYTOPATOLOGY

**DOCTORAL THESIS
STUDIES REGARD INFLUENCE OF
PHYTOSANITARY TREATMENTS ON THE
YEASTS DIVERSITY AND DISTRIBUTION IN
IASI VINEYARD**

PhD Coordinator,

PhD, Prof. Eugen ULEA

PhD Student, Eng.

Costinela PATROLEA
(ATODIRESEI)

IAȘI, 2023

CUPRINS

CUPRINS.....	5
LISTA ABREVIERILOR	11
INTRODUCERE.....	13
REZUMAT	19
PARTEA I: STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRILOR.....	31
1. ISTORICUL VIȚEI DE VIE	31
1.1. Etapa prefiloxerică	33
1.2. Etapa filoxerică	34
1.3. Etapa postfiloxerică	35
2. VIȚA DE VIE – IMPORTANȚĂ ȘI SISTEMATICĂ.....	36
2.1. Importanța viței de vie	36
2.2. Sistematica viței de vie	38
2.3. Ecologia viței de vie.....	40
3. SITUAȚIA CULTURII VIȚEI DE VIE PE PLAN MONDIAL ȘI NAȚIONAL.....	42
3.1. Situația viței de vie la nivel mondial.....	42
3.2. Situația pe plan European și național	44
4. LEVURILE ÎN SECTORUL VITI-VINICOL – IMPORTANȚĂ ȘI TAXONOMIE	48
4.1. Importanța levurilor în sectorul viti-vinicol	48
4.2. Taxonomia levurilor oenologice	49
4.2.1. Grupa levurilor <i>Saccharomyces sensu stricto</i>	49
4.2.2. Caracteristicile genomice ale levurilor întâlnite în vinificație	50
4.3. Metabolismul levurian	51

4.3.1. Metabolismul energetic al levurilor	52
4.3.2. Compușii secundari ai fermentației.....	52
PARTEA a II -a: CONTRIBUȚII PROPRII	54
5. CARACTERIZAREA CADRULUI NATURAL ÎN CARE S-AU EFECTUAT EXPERIMENTELE	54
5.1. Așezarea geografică a câmpului experimental.....	54
5.2. Geomorfologia, pedologia și hidrografia fermei.....	55
5.3. Condițiile climatice înregistrate în perioada experimentală.....	56
5.3.1. Regimul termic în anii de experimentare	56
5.3.2. Regimul pluviometric în anii de experimentare	59
6. SCOPUL, OBIECTIVELE, MATERIALUL ȘI METODELE DE CERCETARE	63
6.1. Scopul, obiectivele și importanța cercetărilor realizate	63
6.1.1. Scopul cercetărilor	63
6.1.2. Obiectivele cercetării	64
6.2. Materialul de lucru și metodele de cercetare în câmp.....	64
6.2.1. Materialul biologic folosit în experiență	64
6.2.2. Organizarea experienței	67
6.2.3. Metode de cercetare în câmpul experimental.....	69
6.3. Metode de cercetare în laborator.....	80
6.3.1. Izolarea sușelor de levuri din probele de sol și plante.....	80
6.3.2. Analiza cantitativă a coloniilor levuriene	85
6.3.3. Analiza taxonomică și morfologică a sușelor levuriene.....	86
7. REZULTATE PRIVIND CREȘTEREA ȘI DEZVOLTAREA VITEI DEVIE.....	91

7.1. Rezultate privind observațiile fenologice	91
7.2. Rezultate privind măsurătorile biometrice	94
8. REZULTATE PRIVIND ANALIZA CANTITATIVĂ A SUȘELOR LEVURIENE.....	98
8.1. Rezultate privind încărcătura levuriană din sol.....	98
8.2. Rezultate privind încărcătura levuriană de pe plante	105
9. REZULTATE PRIVIND CARACTERIZAREA TAXONOMICĂ ȘI MORFOLOGICĂ A LEVURILOR IZOLATE.....	111
9.1. Rezultate privind identificarea taxonomică a tulpinilor de levuri izolate	111
9.2. Rezultate privind analiza filogenetică a tulpinilor izolate.....	119
9.3. Rezultate privind studierea morfologică a sușelor de levuri izolate	122
9.2.1. Caracteristicile morfologice ale sușelor levuriene izolate în anul 2021	122
9.2.2. Caracteristicile morfologice ale sușelor levuriene izolate în anul 2022	127
CONCLUZII	135
BIBLIOGRAFIE.....	147
ANEXE	163
LISTA TABELELOR.....	163
LISTA FIGURILOR	167

TABEL OF CONTENTS

TABEL OF CONTENTS	8
LIST OF ABBREVIATIONS	12
INTRODUCTION.....	16
ABSTRACT	25
PART I: THE PRESENT STATE OF RESEARCH	31
1. BRIEF HISTORY OF VINE	31
1.1. The prephylloxera stage	33
1.2. The phylloxera stage	34
1.3. The postphylloxera stage	35
2. THE GRAPE VINE CULTURE – IMPORTANCE AND SYSTEMATICS.....	36
2.1. The grape vine importance.....	36
2.2. The grapevine systematics	38
2.3. The grapevine ecology	40
3. THE GRAPEVINE SITUATION ON GLOBAL AND NATIONAL LEVEL.....	42
3.1. Worldwide vine situation	42
3.2. European and national wide vine situation	44
4. OENOLOGICAL YEASTS – IMPORTANCE AND TAXONOMY ..	48
4.1. The yeasts importance in oenological field.....	48
4.2. Oenological yeasts taxonomy	49
4.2.1. <i>Saccharomyces sensu stricto</i> yeasts group.....	49
4.3. The yeast metabolism	51

4.3.1 The yeast energetic metabolism	52
4.3.2. The fermentation secondary compounds	52
PART II: PERSONAL CONTRIBUTIONS.....	54
5. NATURAL ENVIRONMENT CHARACTERIZATION WHERE EXPERIMENTS WERE CARRIED OUT	54
5.1. Geographical location of experimental field.....	54
5.2. Geomorphology, pedology and hydrology of experimental field.....	55
5.3. The climatic conditions.....	56
6. AIMS, OBJECTIVES, MATERIAL AND METHODS.....	63
6.1. Aim, objectives and research importance	63
6.1.1. Research aim.....	63
6.1.2. Research objectives.....	64
6.2. Material and field methods	64
6.2.1. Biological material used for experimentation.....	64
6.2.2. Experiment field organization.....	67
6.2.3. Research methods in field experiment	69
6.3. Laboratory research methods	80
6.3.1 Isolalation of yeast strains from soil and plant samples.....	80
6.3.2. Quantitative analysis of yeast colonies	85
6.3.3. Taxonomic and morphological analysis of yeast strains.....	86
7. RESULTS ON VINE GROWTH AND DEVELOPMENT	91
7.1 Phenological observations results	91
7.2. Biometric measurements results	94
8. YEASTS QUANTITATIVE ANALYSIS RESULTS	98

8.1. Results regarding the levurian load from the soil	98
8.2 Results regarding the levurian load on plants	105
9. RESULTS REGARDING THE TAXONOMIC AND MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF THE ISOLATED YEASTS	111
9.1. Results regarding taxonomic identification of yeast strains isolated	111
9.2. Results regarding the phylogenetic study of isolated yeast strains	119
9.3. Results regarding the morphological study of isolated yeast strains	122
9.2.1. The morphological characteristics of isolated strains in 2021	122
9.2.2. The morphological characteristics of isolated strains in 2022	127
CONCLUSIONS	141
LIST OF TABLES	165
LIST OF FIGURES	171

LISTA ABREVIERILOR

Ca - Calciu

Mg – Magneziu

ORI – Originea regiunii de replicare

kb – Kilo bază

ADNmt – Acid dezoxiribonucleic mitocondrial

ADNn – Acid dezoxiribonucleic nuclear

mb – Mega bază

ARNt – Acid ribonucleic transportor

ADNmt – Acid dezoxiribonucleic mitocondrial

ATP – Adenozin trifosfat

NADH - Nicotinamid adenin dinucleotid forma redusă

NAD - Nicotinamid adenin dinucleotid

NADP- Nicotinamid adenin dinucleotid fosfat

VFA – Acid gras volatil

PCR – Reacție de polimerizare în lanț (**P**olymerase **C**hain **R**eaction)

GPCA - Glucose Peptone Chloramphenicol Agar – Mediu nutritiv constituit din 20% dextroză, 15% agar, 5 % peptonă, 2 % extract drojdie și 0,05% Cloramfenicol.

UFC – Unități formatoare de colonii

c.f.r. – Coeficient de fertilitate relativ

c.f.a – Coeficient de fertilitate absolut

Ipr – Indice productivitate relativ

Ipa – Indice productivitate absolut

s.a. – Substanță activă

LIST OF ABBREVIATIONS

Ca - Calcium

Mg – Magnesium

ORI – Region replication origin

kb – Kilo base

ADNmt – Mitochondrial deoxyribonucleic acid

ADNn –Nuclear deoxyribonucleic acid

mb – Mega base

ARNt – Carrier ribonucleic acid

ADNmt – Mitochondrial deoxyribonucleic acid

ATP – Adenosine triphosphate

NADH - Nicotinamide adenine dinucleotide reduced form

NAD - Nicotinamide adenine dinucleotide

NADP- Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

VFA – Volatile fatty acid

PCR – **P**olymerization **C**hain **R**eaction

GPCA - Glucose Peptone Chloramphenicol Agar – Nutrient medium consisting of 20% dextrose, 15% agar, 5 % peptone, 2 % yeast extract and 0,05% Chloramphenicol.

UFC – Colony forming units (CFU)

c.f.r. – Relative fertility coefficient

c.f.a – Absolute fertility coefficient

Ipr – Relative productivity index

Ipa – Absolute productivity index

s.a. – Active substance

INTRODUCERE

Atât tehnologia de cultură a viței de vie cât și oenologia sunt activitățile oamenilor încă din cele mai înaintate timpuri. În Europa, în clasamentul țărilor cu viticultură și vinificație, România, fiind țară vitivinicolă, se află pe locul cinci ca suprafață viticolă (după Spania, Franța, Italia, Portugalia), locul șase în ceea ce privește producția de struguri și locul șase în producția de vin.

În prezent, în interiorul granițelor noastre se găsesc circa 190.000 ha de viță de vie, reprezentând aproximativ 3% din suprafața viticolă mondială. În fiecare an pe teritoriul țării noastre se produc aproximativ 5 mil. hectolitri de vin.

În practica oenologică veriga de bază o reprezintă calitatea procesului fermentativ ce asigură obținerea vinurilor de clasă superioară care reflectă personalitatea și tipicitatea arealului viticol. Studiarea levurilor indigene și implicit utilizarea acestora în tehnologie reprezintă o permanentă preocupare în domeniul cercetării. Însă pentru a putea discuta despre calitatea procesului fermentativ și a levurilor din flora spontană se consideră necesară studierea factorilor externi asupra diversității și distribuției microbiotei levurice în cadrul plantațiilor viticole.

Biodiversitatea levurilor prezintă o importanță majoră în natură jucând rol de balanță între ciuperci și bacterii. În sol îndeosebi, drojdiile ajută la creșterea plantelor și prezintă rol semnificativ în formarea agregatelor și menținerea structurii solului. Celulele levurice reprezintă sursă nutritivă pentru alte microorganisme contribuind astfel în derularea proceselor ecologice esențiale, ca de exemplu mineralizarea materialului organic și dispersarea compușilor rezultați, respectiv carbonul și energie în straturile solului. (Botha A., 2011).

Conform Lopez-Pineiro A, *et al.*, 2013, din totalitatea microroganismelor existente în sol, levurile prezintă dependență evidentă față de fazele fenologice ale viței de vie și implicit față de dezvoltarea zaharurilor fermentescibile din struguri până la momentul recoltării.

Microbiota solului prezintă fluctuații direct proporționale cu schimbările climatice și dinamica fenofazelor viței de vie.

Cunoașterea și analiza stadiilor fenologice ale viței de vie prezintă o importanță deosebită și în tehnologia de cultură întrucât oferă informații privind aplicarea tratamentelor pentru combaterea bolilor și dăunătorilor, aplicarea

schemei de fertilizare și de asemenea executarea optimă a lucrărilor necesare în plantațiile de viță de vie.

Prin urmare sunt necesare cercetări în domeniul viti-vinicol având ca principal obiectiv factorii tehnologici ce prezintă influență directă asupra dezvoltării și distribuției levurilor atât în solul cât și pe struguri până la momentul culesului.

În aceeași direcție, scopul și obiectivele lucrării de doctorat constau în determinarea influenței tratamentelor fitosanitare asupra diversității și distribuției levurilor în condițiile Centrului viticol Copou Iași.

Rezultatele studiului confirmă îndeplinirea obiectivelor și atingerea scopului propus aducând în prim plan informații de real interes în ceea ce privește izolarea și selecționarea unor sușe levuriene din microflora indigenă și gradul de influență a factorilor fitosanitari asupra acestora în condițiile pedoclimatice specifice arealului viticol studiat.

Atât în activitatea de cercetare și elaborare a tezei de doctorat cât și în formarea și pregătirea individuală am avut parte de sprijin, deplină înțelegere, înțeleaptă și competentă sfătuire și îndrumare științifică acordate de către Domnul Prof. univ. dr. Eugen ULEA căruia doresc pe această cale să îi mulțumesc și cu deosebită considerație să îl asigur de toată recunoștința și prețuirea mea.

Gratitudine și alese recunoștințe domnului Conf. dr. Florin Daniel LIPȘA pentru sprijinul acordat permanent, încrederea, îndrumările și sfaturile constante pe toată perioada cercetării, realizării analizelor și elaborării tezei de doctorat.

De asemenea doresc să mulțumesc

○ *conducerii Universității de Științele Vieții „Ion Ionescu de la Brad” Iași, personal Domnului Rector, Prof. univ. dr. Gerard JITĂREANU, Domnului Președinte al Senatului, Prof. univ. dr. Vasile VÎNTU pentru crearea condițiilor de realizare a activităților de cercetare științifică.*

○ *conducerii Școlii Doctorale, Domnului Prof. univ. dr. Valeriu V. COTEA pentru sprijinul și sfaturile acordate pe parcursul cercetării doctorale.*

○ conducerii Facultății de Agricultură, personal Domnului Decan, Conf. univ. dr. Denis ȚOPA pentru sprijinul informațional și logistic oferit pe parcursul anilor de pregătire doctorală.

○ întregului corp didactic al disciplinei de Fitopatologie din cadrul Facultății de Agricultură, pentru sprijinul și sfaturile acordate pe toată perioada de cercetare și de elaborare a tezei de doctorat și evidențiez susținerea primită din partea doamnei Șef lucr. dr. Andreea-Mihaela FLOREA și a domnului Asist. dr. Andrei-Mihai GAFENCU.

○ domnului Prof. univ. dr. Mihai TĂLMACIU de la disciplina de Entomologie pentru sfaturile și îndrumările constante.

○ dnei. Ionela BULEI din cadrul laboratorului de Fitopatologie a Facultății de Agricultură pentru tot sprijinul și susținerea acordată în realizarea analizelor de laborator.

○ domnului ing. Petru POPA din cadrul Fermei Didactice „Vasile Adamachi” Iași pentru sprijinul permanent, încrederea și îndrumările acordate pe toată perioada desfășurării activității de doctorat.

Mulțumesc de asemenea și celorlalte cadre didactice ce nu au fost nominalizate dar care au contribuit la pregătirea și formarea mea personală și profesională.

Și nu în ultimul rând adresez profunde mulțumiri și alese recunoștințe soțului, părinților, surorii și familiei pentru toată înțelegerea, susținerea și încrederea oferită pe parcursul doctoratului și tuturor celor care mi-au fost alături și m-au ajutat să mă dezvolt, atât pe plan profesional, cât și personal.

INTRODUCTION

Since ancient times, both vine growing technology and oenology were practiced. In Europe, in the country ranking with viticulture and winemaking, Romania ranks 5th in terms of wine area (after Spain, France, Italy, Portugal), 6th place in what regarding grape production and 6th place in wine production.

Currently, within our borders there are about 190,000 ha of vines, representing approximately 3% of the world's wine-growing area. In every year on the territory of our country, approximately 5 million hectoliters of wine are produced.

In oenological practice, the basic link is the quality of the fermentative process that ensures the obtaining of high-class wines that reflect the personality and typicality of the viticulture area. Study of indigenous yeasts and their use in technology represent a permanent concern in field of research. In order to explain the quality of the fermentative process and yeasts activity from the spontaneous flora it is considered necessary to study the effects of external factors on the diversity and distribution of yeast microbiota within the vineyard.

Yeast biodiversity is of major importance in nature having a balancing role between fungi and bacteria. In soil in particular, yeasts help plant growth and have a significant role in aggregate formation and maintaining soil structure. Yeast cells represent a nutrient source for other microorganisms, thus contribute to the development of essential ecological processes, such as mineralization of organic material and dispersion of the resulting compounds, namely carbon and energy in the soil layers. (Botha A., 2011).

According to Lopez-Pineiro A. *et al.*, 2013, from all the soil microorganisms, yeasts show an obvious dependence on the phenological phases of the vine and on the development of fermentable sugars in the grapes until harvesting time.

The soil microbiota exhibits fluctuations directly proportional to climate changes and the dynamics of vine phenophases.

The analysis of the phenological stages of grapevine is also of particular importance in viticulture technology as it provides information on the application

of treatments to combat diseases and pests, the application of the fertilization and also the optimal execution of the work required in the grapevine.

Therefore, research is needed in field of viticulture, having as main objective the influence of technological factors on the development and distribution of yeasts both in the soil and on the grapes until harvesting time.

In the same direction, the aim and objectives of the doctoral thesis consist in determining the influence of phytosanitary treatments on the diversity and distribution of yeasts in Copou Iași Viticulture Center.

The results of the study confirm the fulfillment of the objectives and the achievement of the aim, bringing to the fore information regarding the isolation and selection of some yeast strains from the indigenous microflora and the influence of the phytosanitary factors on them in the pedoclimatic conditions specific to the studied viticultural area.

Both in the research and in the elaboration of the doctoral thesis I had the support, full understanding, wise and competent advice and scientific guidance given by PhD, Prof. Eugen ULEA, whom I would like to thank in this way and with special consideration to assure him of all my gratitude and appreciation.

Gratitude and special thanks to PhD, Assoc. Prof. Florin Daniel LIPȘA for the constant support, trust, guidance and constant advice during the entire period of research, analysis and elaboration of the doctoral thesis.

Special thanks go to the board of the University of Life Sciences "Ion Ionescu de la Brad" Iași, the Rector, PhD, Prof. Gerard JIȚĂREANU, to the President of the Senate, PhD, Prof. Vasile VÎNTU for creating the conditions for carrying out scientific research activities.

Consideration and special thanks to the board of the Faculty of Agriculture, the Dean, PhD, Assoc. Prof. Denis ȚOPA for the informational and logistical support provided during the research study.

Special gratitude to the entire teaching staff of the Phytopathology discipline within the Faculty of Agriculture, for the support and advice given during the

entire period of research and development of the doctoral thesis, and I emphasize the support offered especially by PhD, Lect. Andreea-Mihaela FLOREA and PhD, Asist. Prof. Andrei-Mihai GAFENCU. I would like to express my gratitude to PhD, Prof. Mihai TĂLMACIU from Entomology discipline for his constant advice and guidance.

I also want to emphasize all the support and encouragement given during the laboratory analyzes of Ms. Ionela BULEI from Phytopathology laboratory of the Faculty of Agriculture. Special gratitude and special thanks to Eng. Petru POPA from "Vasile Adamachi" Didactic Farm, Iași, for permanent support, trust and guidance given throughout the duration of the doctoral activity.

Special thanks go also to the other professors and collaborators who are not nominated but who contributed to my personal and professional training and education, and to whom, I assure them of my gratitude.

I would like to express my deep thanks and gratitude to my husband, parents, sister and family for all the understanding, support and trust offered throughout this period and to all those who have been with me and helped me to develop both professionally and personally.

REZUMAT

Cuvinte cheie: vița de vie, fenofaze, tratamente fitosanitare, izolare levuri, analiză morfologică, colonii, identificare taxonomică, secvențiere ADN

În practica oenologică veriga de bază o reprezintă calitatea procesului fermentativ ce asigură obținerea vinurilor de clasă superioară care reflectă personalitatea și tipicitatea arealului viticol. Studiarea levurilor indigene și implicit utilizarea acestora în tehnologie reprezintă o permanentă preocupare în domeniul cercetării. Însă pentru a putea discuta despre calitatea procesului fermentativ și a levurilor din flora spontană se consideră necesară studierea factorilor externi asupra diversității și distribuției microbiotei levurice în cadrul plantațiilor viticole.

Teza de doctorat cu tema „*Studii privind influența tratamentelor fitosanitare asupra diversității și distribuției levurilor în condițiile Centrului viticol Iași*” cuprinde rezultatele activității de cercetare realizată în perioada 2021-2022.

Experiența a fost realizată în cadrul Stațiunii Didactice – Ferma „Vasile Adamachi” Iași. Majoritatea analizelor au fost efectuate în laboratorul de Fitopatologie a Facultății de Agricultură, din cadrul Universității de Științe Vieții „Ion Ionescu de la Brad”, Iași, iar identificarea taxonomică a tulpinilor de levuri izolate s-a realizat în cadrul Laboratorului *BMR Genomics* din Padova, Italia, laborator specializat în secvențierea ADN.

Scopul prezentei teze de doctorat constă în stabilirea influenței tratamentelor fitosanitare asupra diversității și distribuției levurilor în condițiile centrului viticol Iași. Studiarea diversității și distribuției levurilor în domeniul vitivinicol se află în tendințele de cercetare științifică, atât la nivel național cât și internațional.

Pentru a răspunde scopului propus s-au stabilit următoarele obiective:

-  aplicarea tratamentelor fitosanitare la cultura viței de vie conform calendarului corelat cu fenofazele de dezvoltare a plantelor;
-  izolarea și selecționarea sușelor levuriene prelevate din sol și plantă în diferite faze de dezvoltare a plantelor;
-  stabilirea influenței factorilor experimentali asupra diversității și distribuției levurilor în arealul viticol studiat;

 stabilirea particularităților morfologice și fiziologice a tulpinilor de levuri izolate;

 identificarea taxonomică a levurilor selecționate prin metode de extracție și secvențiere ADN (Metoda PCR).

Pentru atingerea obiectivelor propuse în cadrul prezentei teze, activitatea de cercetare a fost organizată pe trei direcții:

-aplicarea tratamentelor fitosanitare conform tratamentului în funcție de fenofaza de dezvoltare a plantei.

-prelevarea probelor de sol și plantă în fenofaze și adâncimi ale solului diferite.

-caracterizarea sușelor levuriene izolate din sol și de pe plante la nivel de laborator în vederea caracterizării morfologice și taxonomice a acestora.

Pentru realizarea activității de cercetare s-au ales soiurile Fetească Neagră, Fetească Albă, Busuioacă de Bohotin și Fetească Neagră din cadrul colecției ampelografice a Fermei „Vasile Adamachi” Iași. Alegerea soiurilor luate în studiu s-a realizat în vederea măririi diversității studiului și în baza răspândirii destul de largă a acestora în podgoriile României.

Factorii experimentali luați în studiu au fost:

○Factorul A: soiul de struguri, cu 4 graduări:

a₁ – Fetească Albă;

a₂ – Busuioacă de Bohotin;

a₃ – Fetească Neagră;

a₄ – Fetească Neagră colecție;

○Factorul B: sursa levurilor, cu 2 graduări:

b₁ – boabe/plantă; b₂ – sol

○Factorul C: fenofaza de prelevare a levurilor, cu 3 graduări:

c₁ – lăstar 5-7 cm;

c₂ – finalul înfloritului;

c₃ – maturitate deplină

Probele din sol și plante au fost prelevate în trei fenofaze diferite de dezvoltare, după cum urmează: lăstar 5-7 cm, finalul înfloritului și maturitate deplină. Aceste fenofaze au fost alese prin prisma importanței lor în planul aplicării tratamentelor cât și în procesul dinamicii încărcăturii levuriene.

În vederea analizei pe verticală a microbiotei solului, prelevările au mers pe 3 adâncimi: 5-10 cm, 10-15 cm, 15-20 cm.

În vederea stabilirii influenței tratamentelor fitosanitare asupra diversității și distribuției levurilor s-au realizat în fenofaza de lăstar 5-7 cm două prelevări de sol la diferență de 10 zile astfel:

o serie de probe prelevate cu 3 zile înainte de tratamentul cu produsul comercial Dithane® M-45 în doză de 0,2% (2021) și Acrobat® MZ 69 WG în doză de 0,22% (2022) ce prezintă acțiune asupra agenților patogeni *Plasmopara viticola* și *Botrytis cinerea* ce provoacă Mana și Putregaiul cenușiu al viței de vie. Trebuie precizat faptul că atât Dithane® M-45 cât și Acrobat® MZ 69 WG conțin ca substanță activă 60-80% mancozeb.

a doua prelevare de probe după 7 zile de la tratamentul împotriva Manei și Putregaiului cenușiu.

Ulterior s-au mai realizat alte două prelevări, de data aceasta și din sol și de pe plantă, la finalul înfloritului și la maturitatea deplină.

În vederea izolării levurilor caracteristice arealului viticol probele prelevate în cele trei fenofaze au fost prelucrate conform metodologiei standard și a protocolului experimental rezultând astfel ca surse de izolare:

- sol curățat de impurități și mojarat
- apa de spălare a inflorescențelor (la finalul înfloritului)
- apa de spălare a bachelor (la maturitatea deplină).

În cei doi ani de studiu din sol s-au izolat 18 sușe din sol, din apa de spălare a inflorescențelor au rezultat 5 sușe iar din apa de spălare a strugurilor au fost selecționate 11 sușe.

Atât în anul 2021 cât și în 2022 sușele izolate au fost analizate din punct de vedere macro- și microscopic stabilindu-se caracteristicile specifice ale coloniilor (forma, profilul, suprafața și culoarea) respectiv aspectul celulelor la microscop.

În etapa următoare sușele izolate și analizate morfologic au fost identificate taxonomic prin secvențiere ADN. În urma prelucrării genomice s-au identificat șase tulpini de levuri ce au prezentat diversitate atât din punct de vedere al soiurilor de struguri din care au fost prelevate cât și din punct de vedere al sursei, a fenofazei și al anului izolării.

Din punct de vedere structural, teza de doctorat cuprinde 177 pagini, 53 de figuri și 27 de tabele.

Prima parte, „Stadiul actual al cercetărilor” cuprinde 4 capitole, însumând 53 de pagini, ce relatează istoricul viței de vie, importanța, sistematica și ecologia plantațiilor viticole, situația culturii viței de vie pe plan mondial și național și nu în ultimul rând importanța și taxonomia levurilor în sectorul vitivinicol.

A doua parte, „Contribuții proprii” este structurată în 5 capitole însumând 124 pagini. În această parte se evidențiază informații privind cadrul natural în care s-a desfășurat activitatea de cercetare, scopul și obiectivele propuse

în cadrul tezei, materialul și metodele de cercetare folosite, rezultate privind observațiile fenologice și măsurătorile biometrice realizate în câmp, rezultate privind analizele cantitative și calitative ale sușelor izolat, identificarea taxonomică tulpinilor selecționate precum și analiza filogenetică a acestora.

În **primul capitol** este prezentată pe scurt istoria viței de vie, atât la nivel național cât și internațional.

Capitolul al doilea prezintă sistematica viței de vie, importanța acesteia și ecologia plantei. În acest capitol sunt descrise pe scurt modalitățile de clasificare a soiurilor și cerințele viței de vie în vederea adaptabilității în diferite areale viticole.

Al treilea capitol prezintă situația viței de vie în ultimii 21 de ani atât la nivel mondial cât și european și național.

În **al patrulea capitol** sunt prezentate aspecte privind importanța levurilor în sectorul vitivinicol, taxonomia levurilor oenologice, prezentarea caracteristicilor genomice ale levurilor întâlnite în vinificație. De asemenea sunt descrise aspecte despre metabolismul levurian.

În **al cincilea capitol** se realizează descrierea cadrului natural în care s-au efectuat experimentele, făcând referire la:

- Așezarea geografică a câmpului experimental;
- Geomorfologia, hidrografia și hidrologia zonei;
- Condițiile climatice înregistrate în perioada cercetărilor, cu referire la regimul termic și regimul pluviometric înregistrat în anii experimentali

În **al șaselea capitol** sunt prezentate obiectivele și scopul tezei de cercetare, materialul biologic utilizat, organizarea experienței și metodele utilizate.

În acest capitol metodele de lucru au fost împărțite pe metode de analiză în câmp și metode de cercetare în laborator.

Metodele de cercetare în laborator au cuprins:

- izolarea sușelor de levuri din sol
- izolarea sușelor de levuri de pe plante
- analiza cantitativă a coloniilor levuriene
- determinarea caracteristicilor macro- și microscopice a tulpinilor de levuri selecționate
- identificarea taxonomică a sușelor levuriene prin metoda PCR.

Al șaptelea capitol cuprinde rezultate privind observațiile fenologice și măsurătorile biometrice în cazul celor patru soiuri luate în studiu.

Sunt prezentate detaliat rezultate precum:

- observații fenologice

- măsurători biometrice (fertilitate și productivitatea lăstarilor, creșterea lăstarilor)

Acești parametri, au fost urmăriți pe întreaga perioadă de vegetație în anii de experimentare, prezentându-se rezultatele obținute pe fiecare an experimental în parte, dar și media anilor.

În **capitolul opt** sunt prezentate rezultatele privind încărcătura levuriană a probelor prelevate, atât din sol cât și de pe inflorescențe și struguri aflați la maturitatea deplină.

Analizată din punct de vedere al fenofazei de prelevare și al sursei de izolare, microbiota probelor a prezentat diversitate.

Comparând cele patru soiuri luate în studiu, încărcătura levuriană a probelor prelevate din sol a fost superioară atât înainte de tratament cât și după tratament în cazul soiului Fetească Neagră Colecție, care a înregistrat un prag maxim de 26×10^6 UFC/g sol înainte de tratament, respectiv 24×10^6 UFC/g sol după tratament.

În împărțirea pe verticală a levurilor în sol numărul de microorganisme prezintă pantă descendentă invers proporțională cu adâncimea de prelevare, astfel se poate deduce că scăderea constantă a activității microbiotei din straturile inferioare este caracterizată prin lipsa oxigenului, scăderea cantității de substanțe nutritive și bineînțeles alcalinizarea treptată a solului.

Diferențele semnalate între factorii experimentali ai studiului (adâncimi de prelevare, soiuri, fenofaze de prelevare) evidențiază faptul că solul reprezintă o reală sursă microbiană bogată și diversificată. Numărul levurilor într-un anume loc este influențat direct de cantitatea de carbon și substanțe nutritive necesare dezvoltării.

În cazul probelor de pe inflorescențe respectiv bace la maturitate deplină s-a observat o evoluție ascendentă sfârșitul înfloritului până la maturitatea deplină, evoluție constantă în cazul celor patru soiuri luate în studiu.

Variațiile privind încărcătura microbiană între cele patru soiuri în diferite fenofaze de dezvoltare a plantei ne indică faptul că microbiota plantațiilor viticole este dependentă de ritmul și dinamica dezvoltării fiecărui soi de viță de vie în parte, corelată bineînțeles cu dinamica transferării și dezvoltării levurilor din sol și condițiile climatice ale anului luat în studiu.

Aceste rezultate confirmă studiile din literatura de specialitate conform cărora cantitatea levurilor din plantațiile viticole cresc proporțional cu acumularea de zaharuri fermentescibile în bace influențând astfel pozitiv procesul dezvoltării microbiotei viticole.

Capitolul nouă cuprinde rezultate privind identificarea taxonomică a levurilor izolate și caracterizarea acestora din punct de vedere morfologic.

În urma prelucrării genomice s-au identificat șase tulpini de levuri ce au prezentat diversitate atât din punct de vedere al soiurilor de struguri din care au fost prelevate cât și din punct de vedere al sursei, a fenofazei și al anului izolării.

Tulpinile izolate aparțin genurilor *Solicoccozyma*, *Hanseniaspora*, *Rhodotorula*, *Filobasidium*, *Cystobasidium* și *Cryptococcus*.

Ponderea cea mai mare o deține specia *Solicoccozyma aerea* cu 47,22 % din total fiind regăsită în toate fenofazele de prelevare atât în sol cât și pe plante indiferent de anul de studiu. Specia *Hanseniaspora uvarum* s-a regăsit în sol doar în fenofaza de maturitate deplină iar pe plantă a fost prezentă atât la finalul înfloritului cât și la maturitatea deplină.

Specia *Rhodotorula glutinis* s-a regăsit atât în fenofaza de maturitate deplină cât și pe inflorescențe și bace în sol.

Specia *Filobasidium floriforme* a deținut un procent de 11,7 din totalul speciilor selecționate regăsindu-se atât în sol cât și pe struguri la maturitatea deplină a acestora.

Speciile *Cystobasidium pinicola* și *Cryptococcus aeris* s-au întâlnit în cel mai mic procent în arealul viticol luat în studiu. În timp ce specia genului *Cryptococcus* a fost prezentă în sol la adâncimea de 15-20 cm în fenofaza de lăstar 5-7 cm specia *Cystobasidium pinicola* s-a regăsit la finalul înfloritului pe inflorescențe.

Comparând cele șase specii selecționate observăm că *Solicoccozyma aerea* este prezentă atât în cazul tuturor adâncimilor de prelevare cât și pe organele vegetative ale plantelor în timp ce celelalte cinci specii se regăsesc preferențial pe surse și adâncimi de recoltare.

Din punct de vedere morfologic coloniile tulpinilor izolate au prezentat profil convex și plat, suprafață lucioasă, mată și în unele cazuri aspect mucoid, colorațiile variind de la alb până la crem și portocaliu.

Teza de doctorat se încheie cu un capitol destinat **concluziilor** ce au fost tratate pe baza rezultatelor și interpretării acestora.

Bibliografia însumează 171 de titluri din literatura de specialitate, atât naționale cât și internaționale.

ABSTRACT

Keywords: grapevine, phenophases, phytosanitary treatments, isolation yeasts, morphological analysis, colonies, taxonomic identification, DNA sequencing.

In oenological practice, the basic link is the quality of the fermentative process that ensures the obtaining of high-class wines that reflect the personality and typicality of the viticulture area. Study of indigenous yeasts and their use in technology represent a permanent concern in field of research. In order to explain the quality of the fermentative process and yeasts activity from the spontaneous flora it is considered necessary to study the effects of external factors on the diversity and distribution of yeast microbiota within the vineyard.

The thesis "Studies regarding the influence of phytosanitary treatments on the diversity and distribution of yeasts in Copou Iasi Vineyard" includes the results of the research activity carried out in the period 2021-2022.

The experience was carried out at the Research Station - "Vasile Adamachi" Farm Iași. Most of the analyzes were carried out in the Phytopathology laboratory of the Faculty of Agriculture, from "Ion Ionescu de la Brad" University of Life Sciences, Iași, and the taxonomic identification of the isolated yeast strains was carried out in the BMR Genomics Laboratory in Padua, Italy, laboratory specialized in Sanger sequencing.

The purpose of the doctoral thesis is to establish the influence of phytosanitary treatments on the diversity and distribution of yeasts in Iași viticultural center. Studying the diversity and distribution of yeasts in the viticultural field is in the scientific research trends, both at the national and international level.

In order to fulfill the aim of this doctoral thesis, the following objectives were established:

- the application of phytosanitary treatments to vine culture correlated with the plant development phenophases;
- isolation and selection of yeast strains from soil samples and plant samples in different plant development phases;
- establishing the influence of experimental factors on the diversity and distribution of yeasts in the studied wine-growing area;
- establishing the morphological and physiological characteristics of isolated yeast strains;
- taxonomic identification of yeasts selected by DNA extraction and sequencing (PCR) methods.

To achieve the objectives proposed, the research activity was organized in three directions:

- the application of phytosanitary treatments according to the treatment depending on the phenophase of the plant's development.
- sampling of soil and plants in different phenophases and soil depths.
- testing of yeast strains isolated from soil and from plants in order to characterize them morphologically and taxonomically.

In the research activity, were chosen four grape varieties Fetească Neagră, Fetească Albă, Busuioacă de Bohotin and Fetească Neagră from the ampelographic collection of "Vasile Adamachi" Farm, Iași. The varieties were selected with the aim of increasing the diversity of the study and based on their fairly wide spread in Romanian vineyards.

The experimental factors studied were:

o Factor A: grape variety:

a1 – Feteasca Alba;

a2 – Busuioaca de Bohotin;

a3 – Fetească Neagră;

a4 – Fetească Neagra collection;

o Factor B: source of yeasts:

b1 – grain/plant;

b2 – soil

o Factor C: the phenophase of yeast sampling:

c1 – shoot 5-7 cm;

c2 – the end of blooming;

c3 – full maturity.

Soil and plant samples were collected in three different development phenophases: shoot 5-7 cm, end of flowering and full maturity (before harvesting). These phenophases were chosen by their importance on the application of treatments as well as the dynamics process of yeast loading.

In order to analyze the soil microbiota, the samples were taken at 3 depths: 5-10 cm, 10-15 cm, 15-20 cm. To determine the influence of phytosanitary treatments on the diversity and distribution of yeasts, 2 soil samples were taken in the 5-7 cm shoot phenophase at 10-day intervals as follows:

- a series of samples taken 3 days before the treatment with the commercial product Dithane[®] M-45 using a dose of 0.2% (2021) and Acrobat[®] MZ 69 WG (2022) which shows action on the pathogens *Plasmopara viticola* and *Botrytis cinerea* that causes

downy mildew and gray mold of grape. It should be noted that both Dithane[®] M-45 and Acrobat[®] MZ 69 WG contain 60-80% mancozeb as active substance.

- the second sampling after 7 days from the treatment against downy mildew and gray mold.

Subsequently, 2 more samples were taken, both from soil and from plant, at the end of blooming and at full maturity before harvesting.

In order to isolate the yeasts, the samples were processed according to the standard methodology and the experimental protocol, thus resulting as sources of isolation:

- soil cleaned of impurities and plastered
- inflorescence washing water (at the end of flowering)
- berry washing water (when fully ripe).

In this study, 18 strains were isolated from soil, 5 strains were obtained from the washing water of the inflorescences and 11 strains were selected from the washing water of the grapes.

Both in 2021 and in 2022, the isolated strains were macro- and micromorphological analyzed, establishing the specific characteristics of the colonies (shape, profile, surface and color) and the appearance of the cells.

In the next step, the isolated strains were taxonomically analyzed by Sanger sequencing. Following the genomic processing, 6 yeast strains were identified that showed diversity both in terms of grape varieties and in terms of the source, the phenophase and the year of isolation.

Structurally, the doctoral thesis comprises 177 pages, 53 figures and 27 tables.

The first part, "The current stage of research" includes 4 chapters, summing up 40 pages, which incribe the history of the grapevine, the systematic importance and ecology of wine plantations, the situation of grapevine culture on a global and national level, and the importance and taxonomy of yeasts in the wine industry.

The second part, "Personal contributions" is structured in 5 chapters summing 115 pages. This part highlights the climatic conditions in which the research activity was carried out, the aim and objectives proposed in the thesis, the research material and methods used, results regarding the phenological observations and biometric measurements, results regarding the quantitative and qualitative analyzes of isolated strains as well as their taxonomic identification.

In **the first chapter**, the history of the grapevine is briefly presented, both at national and international level.

The second chapter presents the systematics of the vine, its importance and the ecology of the plant. In this chapter, the ways of classifying the varieties and the requirements of the vine for adaptability in different wine-growing areas are briefly described.

The third chapter presents the situation of the grapevine in the last 21 years at global, European and national level.

In **the fourth chapter**, are presented aspects regarding the importance of yeasts in the winemaking industry, the taxonomy of oenological yeasts, the presentation of the genomic characteristics of yeasts found in winemaking. Aspects of yeast metabolism are also described.

In **the fifth chapter**, the experimental field is described, referring to:

- Geographical location of the experimental field;
- Geomorphology, hydrography and hydrology of the area;
- The climatic conditions, with reference to the thermal regime and the rainfall regime recorded in the experimental years.

In **the sixth chapter**, the aim and objectives of the research thesis, the biological material used, and the methods used are presented. In this chapter, the research methods were divided into field analysis methods and laboratory research methods.

Laboratory research methods included:

- isolation of yeast strains from the soil
- isolation of yeast strains from plants
- quantitative analysis of yeast colonies determination of macro- and micromorphological characteristics of selected yeast strains
- taxonomic identification of yeast strains by the PCR method.

The seventh chapter includes results regarding phenological observations and biometric measurements in case of the 4 grape varieties studied. Results are presented such as:

- phenological observations
- biometric measurements (fertility and shoot productivity, shoot growth)

These parameters were studied throughout the vegetation period in the years of experimentation, showing the results obtained for each experimental year separately, as well as the average of the years.

In **the eighth chapter**, the results regarding the yeast load of the samples both from soil and from inflorescences and fully ripped grapes, are presented.

The samples microbiota showed diversity by analyzing the phenophase of sampling and the source of isolation.

Comparing the 4 varieties studied, the yeast load of soil samples was higher both before treatment and after treatment in the case of Fetească Neagră Collection variety, which recorded a maximum threshold of 26×10^6 CFU/g soil before treatment respectively 24×10^6 CFU/g soil after treatment.

In the vertical division of the yeasts in the soil, the number of microorganisms shows a downward slope proportional to the sampling depth, so it can be deduced that the constant decrease in the activity of the microbiota in the lower layers is characterized by the lack of oxygen, the decrease in the amount of nutrients and the alkalization of the soil.

The variations regarding the microbial load between the 4 grape varieties in different phenophases of plant development indicate that the microbiota of the wine plantations is dependent on the rhythm and dynamics of the development of each vine variety, correlated of course with the dynamics of the transfer and development of yeasts from the soil and the climatic conditions of the research year.

These results confirm the studies published in the literature according to which the amount of yeasts in the wine plantations increases proportionally with the accumulation of fermentable sugars in the berries, thus positively influencing the process of wine microbiota development.

Chapter nine includes results regarding the taxonomic identification of isolated yeasts and their morphological characterization.

Following the genomic processing, 6 strains of yeasts were identified that showed diversity both in terms of the grape varieties from which they were taken and in terms of the source, the phenophase and the year of isolation. The isolated strains belong to *Solicoccozyma*, *Hanseniaspora*, *Rhodotorula*, *Filobasidium*, *Cystobasidium* and *Cryptococcus* genera. The largest share is held by *Solicoccozyma aerea* species with 47.22% of the total, being found in all sampling phenophases both in soil and on plants, regardless of the year of study. The species *Hanseniospora uvarum* was found in the soil only in the phenophase of full maturity and on the plant it was present both at the end of flowering and at full maturity.

The species *Rhodotorula glutinis* was isolated both from soil in the phenophase of full maturity and on inflorescences and berries.

Filobasidium floriforme species had a percentage of 11.7 from total species selected, being found both in the soil and on the grapes at their full maturity. The species *Cystobasidium pinicola* and *Cryptococcus aeris* were found

in the lowest percentage in the vineyard area studied. While the species of the genus *Cryptococcus* was present in the soil at the depth of 15-20 cm in the shoot phenophase 5-7 cm, the species *Cystobasidium pinicola* was found at the end of flowering on the inflorescences. Comparing the 6 selected species, we notice that *Solicoccozyma aeria* is present both in case of all sampling depths and on the vegetative organs of plants, while the other 5 species are preferentially found on sources and harvesting depths.

On a morphological basis, the colonies of the isolated strains presented a convex and flat profile, a glossy, matte surface and in some cases a mucoid appearance, the colors varying from white to cream and orange.

The doctoral thesis ends with a chapter assigned to the conclusions drawn based on the results and their interpretation.

The **bibliography** includes 171 titles from national and international literature.

PARTEA I: STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRILOR

PART I: THE PRESENT STATE OF RESEARCH

1. ISTORICUL VIȚEI DE VIE

1. BRIEF HISTORY OF VINE

Pe teritoriul țării noastre viticultura este prezentă ca o activitate importantă, atât în prezent cât și în trecut, având o istorie îndelungată.

Din cele mai cunoscute timpuri până acum se apreciază că primele începuturi legate de cultura viței de vie ar fi avut loc în neolitic prin părțile Asiei Mici cu aproape 8-9 mii de ani înainte de epoca pe care o trăim (Teodorescu I.C. și colab., 1966).

În evoluția ei de până acum, cultura viței de vie marchează etape importante legate nemijlocit de popoare și epoci istorice. Astfel de la Sumerieni și Hitiți apreciați ca fiind pionierii viței de vie și de preparare a vinului ne-au rămas primele idei cu referire la denumirea de origine (Oprea Ș, 2001).

Surse precum imagini, inscripții, desene marchează începuturile viței de vie la poporul egiptean cu aproximativ șase mii de ani în urmă, în epoca primilor faraoni. Grecii antici ce au locuit coastele oceanelor au extins în paralel și suprafețele cu viță de vie cultivate, astăzi aparținând țărilor precum: Spania, Germania, Italia, Franța și litoralul Mării Negre.

Cunoscută ca o activitate importantă pentru poporul nostru, atât în trecut cât și în prezent, cultura viței de vie are o istorie interesantă pe teritoriul românesc și, mai mult decât atât, extrem de îndelungată.

În perioada secolelor XVIII-XIX se formează și se consolidează viticultura ca știință. Evenimentul major care s-a petrecut a fost introducerea filoxerei în Europa - Franța în anul 1863. Apariția filoxerei a marcat trei etape distincte în evoluția viticulturii europene: etapa prefiloxerică, etapa filoxerică și etapa postfiloxerică .

Etapă prefiloxerică este cea mai îndelungată și a durat până la apariția filoxerei. În această etapă vița de vie se cultiva pe rădăcini proprii nealtoită, iar podgoriile erau constituite din sortimente de soiuri locale. Practica viticolă era bazată pe ecosisteme de tip tradițional.

Etapă filoxerică a durat până în jurul anului 1900. Podgoriile europene au fost decimate, rând pe rând de filoxeră. Pentru refacerea lor s-a recurs la aducerea vițelor roditoare americane, rezistente la filoxeră.

Deoarece acestea s-au dovedit în scurt timp de a fi inferioare soiurilor de viță europene, a trebuit să renunțe la ele. Soluția tehnică adoptată a fost altoirea vițelor europene pe vițe americane rezistente la filoxeră. Cultura viței de vie prin altoire a reprezentat o tehnologie mult mai complexă, care necesită cunoștințe noi din partea viticultorilor. Pentru rezolvarea numeroaselor probleme care s-au ivit a fost nevoie de multe cercetări și studii, contribuția cea mai însemnată fiind adusă de viticultorii francezi. Au fost aduse în Europa speciile de vițe americane rezistente la filoxeră, pentru a fi folosite ca portaltoi: acțiunea s-a petrecut în anul 1874, când în sudul Franței a fost folosită pentru prima oară la altoire specia *Vitis riparia*. Prin lucrările de selecție care au urmat, s-au obținut soiurile de vițe de portaltoi pe baza cărora s-a putut reface viticultura europeană.

Etapa postfiloxerică este caracterizată prin trecerea la plantații de vii altoite, restructurarea sortimentelor vechi de soiuri în podgorii și amplificarea lucrărilor de ameliorare a viței de vie. Plantațiile viticole s-au refăcut repede, astfel că în anul 1910 suprafața cultivată cu viță de vie pe glob ajunse la 6,795 mil. ha, din care circa 60% reprezentau plantațiile viticole de vii altoite. A fost organizat un sector pepinieristic viticol, fără de care refacerea și dezvoltarea viticulturii europene nu putea fi concepută. Treptat s-a renunțat la ecosistemele viticole de tip tradițional și a fost generalizat ecosistemul industrial de cultură a viței de vie, bazat pe mecanizare, chimizare, irigare și soiuri de mare productivitate. Cercetarea științifică si-a lărgit preocupările prin studiile asupra vițelor portaltoi, selecția soiurilor de viță roditoare și de portaltoi, influența îngreșămintelor asupra producției de struguri, combaterea bolilor și dăunătorilor în plantațiile viticole, îmbunătățirea lucrărilor culturale ale viței de vie. Se pun bazele științifice ale viticulturii, prin editarea cărților și tratatelor de specialitate, în tot mai multe țări: *Tratat de viticultură* de Brezeau V. (1902), în România; *Etude generale de la vigne* de Gillon M. (1905), în Franța; *Foundation of american grape culture* de Munson V.T. (1909), în America; *Trattato di viticoltura moderna* de Carpentier F. (1930), în Italia.

Pentru coordonarea acțiunilor tehnice, economice și legislative din domeniul agriculturii a fost înființat, în anul 1927, Oficiul Internațional al Viei și Vinului (O.I.V.) cu sediul la Paris, ca organism interguvernamental, la care au aderat toate țările viticole.

Perioada contemporană a dus viticultura la nivelul cel mai înalt de dezvoltare. Cultura viței de vie a ajuns la circa 9 mil. ha. și s-a extins până în zona ecuatorului (Peru, Columbia, Venezuela). În majoritatea țărilor cultivatoare, s-a renunțat la sistemul de cultură joasă, clasic, la vița de vie și s-au adoptat sistemele

moderne de cultură cu forme înalte de conducere a vițelor în plantații și cu distanțe mari de plantare care să permită mecanizarea lucrărilor.

Prof. Teodorescu I.C. (1964) afirmă că în țara noastră vița de vie s-a aflat la ea acasă în regiunile carpatice, nu numai în forma sălbatică, obișnuită ci și în una evoluată, din care se trage vița nobilă europeană astăzi. Geto-dacii au dezvoltat în mod deosebit această cultură pe ambele versante ale Carpaților, unde devine o cultură pur locală. Ea s-a dezvoltat grație existenței în stare naturală a vițelor în zona din apropierea Dunării și a Mării Negre. Pe baza rezultatelor relevate de arheologi se consideră că cele dintâi urme de activitate viticolă pe teritoriul țării noastre datează din neolitic, când triburile de culegători și de vânători devin stabile, practicând agricultura și creșterea animalelor (Tudor D., 1979). Populațiile indigene tracice s-au ocupat intens de cultura viței de vie înainte chiar de colonizările grecești din secolele VII-VI î.H. Se poate considera că în unele părți ale Transilvaniei și în cele din Oltenia și Muntenia acesta era și mai veche, datând din epoca bronzului (Bulencea A., 1975). În țara noastră viticultura a cunoscut trei etape de dezvoltare.

1.1. Etapa prefloxerică

S-a desfășurat de la începuturi până când a apărut filoxera în anul 1884.

Pe vremea geto-dacilor vița de vie luase o extindere atât de mare încât după părerea lui Strabo-regele Burebista (70-40 î.H.), organizatorul primului stat centralizat dac, a ordonat, sfătuit de marele preot Deceneu, distrugerea plantațiilor, cu scopul de a stăvilii incursiunile însoțite de jaf ale altor populații atrase de avuțiile Daciei, printre care și zonele viti-vinicole.

Vița de vie a fost cultivată în continuare și pe vremea lui Decebal, încât la venirea romanilor ea a fost găsită pe aceste teritorii. Romanii nu au făcut decât să continue dezvoltarea viticulturii autohtone, mărindu suprafețele cultivate, introducând noi soiuri. Importanța viticulturii în dacia romană rezultă și din unele emisiuni monetare. Cea mai elocventă dovadă ne-o aduce moneda Dacia Felix, bătută de împăratul roman Decius (249-251 d.H.), care prezenta o femeie dacă și doi copilași care-i duceau struguri și spice de grâu. Atât de la daci cât și de la romani, ne-au rămas o serie de termeni în domeniul viticulturii ca: strugure, butuc, curpen (de la daci) și viță de vie, lămurușcă, must, vin, vinars, călcător, poamă (de la romani).

Cultura viței de vie s-a infiltrat în locurile cele mai favorabile din zonele submontane și intramontane. Dovadă sunt toponimiile de inspirație viticolă din aceste zone ale țării: Dealul Viilor, Podgoria, Vișoara, Cornățel, Viile. (Țârdea C., Dejeu L., 1995). Continuitatea culturii viței de vie în timpul migrației

popoarelor este dovedită și prin păstrarea lexicului viticol de origine latină format în timpul ocupației romane. (Mihalcha Al. și Lazea E., 1990). În epoca modernă și în perioada după unire, proprietățile viticole s-au extins considerabil, ajungând în 1884 la 300.000 pogoane (aprox. 150.000 ha).

În această perioadă care a fost cea mai lungă s-au creat multe soiuri roditoare, cu sortimente proprii fiecărei podgorii. Intervenția statului era neînsemnată și lipsită de coordonare, cel care dădea aprobare pentru culesul viilor era paharnicul cel mare, în schimbul unui dar. Legile întăreau privilegiile stăpânitorilor de vii (Pop N., 2003).

1.2. Etapa filoxerică

Începe odată cu apariția filoxerei în țara noastră și ajunge până în preajma primului război mondial. Oficial apariția filoxerei este consemnată în anul 1884, când plantațiile viticole erau infestate în masă. La data respectivă suprafața cultivată cu viță de vie în Regatul României era de 137-176 mii hectare (Druțu Gh., 1900).

Primele focare filoxerice apar la Bucov (județul Prahova) și Valea Călugărească, mai apoi la Scăeni, totalizând 916 hectare. Atacul filoxerei în decursul a 11 ani, din 1884 până în anul 1895, s-a ajuns la o suprafață de 44.310 hectare, respectiv 22,6% din suprafața țării. Față de rapiditatea dezastrului provocat de filoxeră, se institue Comisia filoxerică în 1884, ce avea sarcina de a studia intensitatea și evoluția atacului, măsurile pentru protecția viilor nefiloxerate. Măsurile ce au fost implementate nu au dat rezultatele directe, prin urmare cercetătorii au recurs la măsuri indirecte adică folosirea hibrizilor direct producători și vițelor americane ca portaltoi.

Astfel în anul 1888, a fost făcut primul import de hibrizi direct producători și s-au pus bazele primelor pepiniere din țara noastră la Strehăia în județul Mehedinți și Țintea în județul Prahova. În Transilvania, sectorul pepinieristic a fost organizat mai devreme, astfel în anul 1885, s-au pus bazele primei pepiniere la Barațca-Păuliș, unde s-au replantat primele suprafețe de vii altoite în verde.

Deoarece materialul produs era insuficient s-a recurs la importarea vițelor din Franța, Algeria, Austria. Importul de vițe altoite aduce în țară o serie de soiuri valoroase ca: Chardonay, Sauvignon, Pinot-urile, Merlot, din cele de vin și Afuz Ali, Muscat de Hamburg, Chasselas, din cele pentru masă.

Lupta împotriva filoxerei a însemnat în final lupta pentru apariția viticulturii moderne în România, altoirea înlocuind butășirea, pepinierele viticole și industrializarea producerii materialului săditor devine o necesitate în practica

viticolă. În reconstrucția viticulturii românești, suprafața ocupată de către hibrizii direct producători a crescut foarte repede, ajungând în 1930 la circa 50% din suprafața viticolă a țării. Aceștia sunt hibrizi între soiurile nobile și vițele americane (*Vitis labrusca*) exemplu: Noah, Castel, Othello, Taylor, Clinton.

Până în apropierea celui dintâi Război Mondial (1915- 1917), a urmat refacerea viticulturii în țara noastră.

1.3. Etapa postfiloxerică

Este cuprinsă de la primul Război Mondial până azi și prezintă o dezvoltare și extindere a suprafețelor de vii și pepiniere care în perioada reconstrucției socialiste ajunge la 300.000 hectare, reprezentând circa 2% din terenul agricol al țării. În anul 1957 a fost înființat Institutul de Cercetări pentru Viticultură și Vinificația cu sediul la Valea Călugărească, cu un număr de 12 stațiuni. În perioada anului 1990, suprafața viticolă a țării era de 3% din totalul agricol și reprezenta 25% din valoarea economiei naționale. Deși tendințele după schimbările determinate de revoluția din 1989 erau încurajatoare privind modernizarea plantațiilor, menținerea patrimoniului în jur a 300.000 de ha, și sporirea producției la circa 10 t/ha la soiurile de vin și la 20 t/ha la cele de struguri de masă, în următorii 10 ani (1990-2000), s-a constatat că suprafețele au scăzut cu aproape 100.000 de hectare. Au avut loc o serie de defrișări necontrolate. Acest fapt a determinat specialiștii să ia atitudine, astfel că în anul 1997 a fost dată Legea nr. 67 a Viei și a Vinului și a fost aprobată de Parlament în anul 1999. Prin reconstituirea proprietății private în agricultură, s-au creat noi condiții pentru o viticultură competitivă, pe plan internațional, organizată și exploatată conform legilor generale ale biosferei (Pop N., 2003) .

2. VIȚA DE VIE – IMPORTANȚĂ ȘI SISTEMATICĂ

2. THE GRAPE VINE CULTURE – IMPORTANCE AND SYSTEMATICS

2.1. Importanța viței de vie

Cultivarea viței de vie prezintă un real interes în aproximativ toate zonele ce se caracterizează prin condiții pedoclimatice corespunzătoare acestei culturi. Prin prisma plasticității sale ecologice, vița de vie reprezintă o cultură ce se poate adapta pe terenuri cu soluri nisipoase, pe versanți, terenuri ce nu se pretează cultivării altor plante agricole.

Din punct de vedere al producției, viticultura ocupă o ramură importantă în domeniul agricol deoarece are un coeficient ridicat în ceea ce privește valorificarea terenurilor. Din punct de vedere financiar, producția ce se realizează pe un hectar de viță de vie se ridică la valoarea a aproximativ 10-15 hectare cultivate cu cereale.

La nivel economic, viticultura și oenologia reprezintă baza de producție pentru obținerea vinurilor și a distilatelor, având pondere însemnată în alimentație.

Strugurii au o structură complexă, prezentând efect energetic, vitaminizant, mineralizant la care putem adăuga și însușiri terapeutice și dietetice. Compoziția chimică a strugurilor prezintă în concentrația cea mai ridicată apă urmată de zaharuri. În perioada de pârgă, conținutul în zaharuri a bachelor poate varia între 14-35%, aproximativ 140-350 g/l la nivel de must (Țârdea C. și colab. 2010).

Vinul prezintă în compoziția sa vitamine în cantități mici, însă complexitatea și acțiunea acestora prezintă importanță în alimentație întrucât asigură cca. 10% din necesarul zilnic al omului.

Tabel 2.1/Table 2.1

Compoziția chimică a strugurilor – valori exprimate în % din greutatea proaspătă

Chemical composition of grapes – % of fresh weight

(după Țârdea C. și colab. 2010/acording to Țârdea C. and colab. 2010)

Componentele chimice	În ciorchini	În boabe		
		pielețe	pulpă	semințe
Apă	78-80	75-80	80-85	25-45
Zaharuri				
-Glucoză	-	-	7-12,5	-
-Fructoză	-	-	8-13	-
-Zaharoză	-	-	0,1-0,15	-
-Pentozani	0,5-1,5	0,5-1	0-0,1	4-5
Acizi organici				
-acid tartric	0,5-1,5	0,2-0,5	0,3-0,8	-
-acid malic	0,1-0,5	0,01-0,02	0,05-0,1	-
-acid citric	-	-	0,02-0,09	-
Polifenoli				
-taninuri	3-5	0,5-1	0,01-0,02	5-8
-antociani	-	0-2	soiuri tinctoriale	-
Substanțe azotate				
-aminoacizi	-	0,02-0,1	0,5-1	-
-polipeptide	1-1,2	0,2-0,3	0,01-0,2	0,5-2
-proteine	0,5-0,8	0,05-0,1	0,01-0,1	0,2-0,5
-amine biogene	-	-	0-0,02	-
Lipide				
-acizi grași	0,01-0,02	0,08-0,2	0,01-0,05	9-18
-fitosteroli	-	0,01-0,04	-	-
Materii pectice				
-protopectine	-	0,01-0,05	-	-
-pectine	-	-	0,5-0,2	-
-gume	-	0,02-0,1	0,01-0,5	-
Substanțe minerale	2-3	0,5-1	0,2-0,3	2-4
Polizaharide				
-Celuloză	5-10	3-4	0,1-0,2	44-57
Vitamine (B,H,PP,C)	-	-	0,01-0,08	-
Enzime	-	Pectolaze	Oxido reductaze	-

2.2. Sistematica viței de vie

Din punct de vedere botanic, vița de vie face parte din familia *Vitaceae* (Lindl)/*Ampelidaceae* (Kunth). Această familie este reprezentată de 12 genuri, conform mai multor autori, iar alții sunt de părere că sunt 14 sau chiar 18 genuri și aproximativ 1100 de specii, cu o răspândire geografică extrem de complexă.

Dintre toate acestea, genul *Vitis* prezintă cea mai importantă răspândire întrucât este caracterizat prin specii de viță de vie cultivate pentru producția de struguri sau pentru portaltoi. În zonele temperate, tropicale și subtropicale din Europa, America de Nord, America de Sud, America Centrală și Asia se întâlnesc 108 specii dintre care identificate concret sunt doar 60: între care includem și specia *Vitis vinifera* (Pop N., 2003b)

Genul *Vitis* este caracterizat prin cca. 60 de specii dioice repartizate în America și Asia, fiind considerate surse de gene rezistente la agenții patogeni. (Mullins M.G. *et al.*, 1992).

În anul 1887 Planchon J.E. a împărțit genul *Vitis* în două secții sau subgenuri:

- Subgenul *Muscadinia* ce cuprinde vițele de vie cultivate în zonele tropicale și subtropicale ale Americii de Sud și de Nord. Acest subgen prezintă struguri cu boabe puține, mici, ce au un proces de maturizare succesiv. Cantitatea de suc și zaharuri din bace este mică iar semințele sunt rotunde.
- Subgenul *Euvitis* (*Vitis*) fiind caracterizat prin speciile de viță de vie „adevărată”, cultivate în zonele temperate ale Asiei, Europei și Americii.

Specia *Vitis vinifera* este cea mai răspândită având în prezent aproximativ 12.987 de soiuri de viță de vie nobilă, conform VIVC (Vitis International Variety Catalogue).

În scopul clasificării soiurilor de viță de vie s-au utilizat diferite criterii: anatomice, fenologice, ecologice, tehnologice, morfologice, etc.

Din punct de vedere morfologic, în 1804 Frege C. face o clasificare a soiurilor împărțindu-le în două mari grupe: soiuri cu bace sferice și soiuri cu bace alungite.

În anul 1926, Edler von Vest clasifică soiurile de viță de vie pornind de la caracterele morfologice ale bachelor (culoare și formă) și morfologia frunzelor (numărul de lobi, porozitate).

În funcție de etapele fenologice s-au luat în calcul perioada de maturare a strugurilor, faza dezmuguritului și momentul înfloritului.

O altă clasificare a soiurilor se realizează de către Puillat V. în 1879 și Gasparin F. în 1886 plecând de la perioada de maturare a soiului reper Chasselas doré, în funcție de care s-au stabilit patru epoci distincte universale de maturare a soiurilor de struguri.

Tabel 2.2/Table 2.2

Gruparea soiurilor de struguri în funcție de soiul reper Chasselas
Grouping of grape varieties according to the benchmark variety Chasselas
 (după Gasparin F. 1886 și Puillat V. 1879/acording to Gasparin F. 1886 and Puillat V. 1879)

Epoca de maturare	Grupa de soiuri	Perioada maturării
I cu 5 zile înainte și după Chasselas	timpurii	cu 5 zile înainte de Chasselas
	mijlocii	odată cu Chasselas
	târzii	cu 5 zile după Chasselas
II 10 - 20 zile după Chasselas	timpurii	cu 10 zile după Chasselas
	mijlocii	cu 15 zile după Chasselas
	târzii	cu 20 zile după Chasselas
III 25 -35 zile după Chasselas	timpurii	cu 25 zile după Chasselas
	mijlocii	cu 30 zile după Chasselas
	târzii	cu 35 zile după Chasselas
IV 40 - 45 zile după Chasselas	timpurii	cu 40 zile după Chasselas
	mijlocii	cu 45 zile după Chasselas
	târzii	peste 45 zile după Chasselas

Plecând de la epoca de maturare a soiului de struguri luat drept reper, Chasselas doré, Constantinescu G. în anul 1958 realizează o clasificare a în funcție de condițiile climatice din țara noastră, împărțind soiurile de struguri în șapte epoci de maturare.

Tabel 2.3/Table 2.3

Clasificarea soiurilor de struguri în funcție de perioada de maturare a soiului Chasselas doré

Classification of grape varieties according to the ripening period of the Chasselas doré variety

(după Constantinescu G. 1958/acording to Constantinescu G. 1958)

Epoca maturării	Interval	Perioada de maturare
Epoca I maturare extratimpurie	15-31 iulie	30 de zile înainte de Chasselas
Epoca a II-a maturare timpurie	1-15 august	15 de zile înainte de Chasselas
Epoca a III-a maturare mijlocie	15-31 august	odată cu Chasselas
Epoca a IV-a maturare prenatală	1-15 septembrie	15 zile după Chasselas
Epoca a V-a maturare normală	15-30 septembrie	30 zile după Chasselas
Epoca a VI-a maturare târzie	1-15 octombrie	45 zile după Chasselas
Epoca a VII-a maturare foarte târzie	15-30 octombrie	peste 45 zile după Chasselas

2.3. Ecologia viței de vie

Ecologia viticolă se ghidează pe două direcții: factorii pedo-climatici ce alcătuiesc arealul viticol și influența acestora asupra viței de vie.

Factorii pedoclimatici ce influențează dinamica și dezvoltarea viței de vie pot fi:

-climatici: radiația solară, temperatura medie a aerului, lumina, umiditatea aerului, vântul și regimul pluviometric;

-edafici: însușirile solului;

-orografici: expoziția terenului, înclinația pantei, forma de relief;

Factorii climatici ce pot influența dezvoltarea și creșterea viței de vie pot fi radiația solară, temperatura aerului, umiditatea atmosferică și regimul pluviometric.

În ceea ce privește radiația solară, aceasta poate varia în funcție de panta și expoziția terenului, anotimp și relief. Nivelul radiației influențează cantitatea de compuși organici acumulați în bace și implicit nivelul producției.

În Dealurile Moldovei valorile radiației solare în perioada vegetației sunt cuprinse între 80-82 kcal/cm² cu o medie anuală de 85 kcal/cm². (Oșlobeanu M. *et al.*, 1991)

Un factor extrem de important în dezvoltarea viței de vie este temperatura care condiționează declanșarea fenofazelor de dezvoltare. Temperatura minimă la care vița de vie își începe etapa de vegetație este 10 °C, prag la care planta începe dez muguritul. În cazul înfloririi pragul minim este de 15°C. (Staudt G., 1982.). În schimb, temperaturile mai mari de 35°C, în lunile mai-iulie blochează procesul de fotosinteză și acumularea glucidelor în struguri.

În lunile iunie-iulie vița de vie necesită temperaturi de 20-25°C în vederea formării inflorescențelor.

În ceea ce privește regimul pluviometric, vița de vie prezintă cerințe moderate de umiditate. Pentru o creștere optimă a plantei, volumul de umiditate trebuie să fie cuprins între 500-700 mm. Abaterile negative sau pozitive de la acest volum influențează creșterea viței de vie, rezistența acesteia la atacurile bolilor și dăunătorilor.

Din punct de vedere al solului, vița de vie preferă solurile cu fragmente calcaroase profunde (60-100 cm), ce le facilitează dezvoltarea radiculară și aprovizionarea cu apă. Porozitatea și aerația solurilor din arealele viticole influențează activitatea radiculară și ajută aprovizionarea butucilor cu substanțe nutritive și apă.

Temperatura solului prezintă o influență majoră în creșterea și dezvoltarea viței de vie. Pentru declanșarea perioadei de vegetație temperatura la nivel radicular trebuie să atingă pragul de 6-8°C. Temperatura optimă pentru dezvoltarea rădăcinilor este de 25°C, procesul fiind încetinit la temperaturi mai mici de 6°C și mai mari de 30°C.

Din punct de vedere climatic, vița de vie prezintă o bună adaptabilitate în diferite areale fiind condiționată doar de două însușiri: durata perioadei de vegetație și rezistența la îngheț. Amplasarea soiurilor de struguri într-un areal ce nu le permit parcurgerea completă a tuturor fenofazelor de dezvoltare poate conduce la producții de calitate slabă, producții reduse cantitativ și pierirea în timp a butucilor.

3. SITUAȚIA CULTURII VIȚEI DE VIE PE PLAN MONDIAL ȘI NAȚIONAL

3. THE GRAPEVINE SITUATION ON GLOBAL AND NATIONAL LEVEL

3.1. Situația viței de vie la nivel mondial

Urmărind evoluția suprafețelor ocupate cu viță de vie în ultimii 19 ani (figura 3.1.), se poate observa că această cultură a ocupat în fiecare an o suprafață mai mare de 6,5 milioane de hectare, minimul fiind de 6,729 milioane ha în anul 2021 iar maximum de 7,390 milioane ha în anul 2003, înregistrându-se o pantă descendentă între anii 2006-2012, ulterior oscilând suprafețele până la 7,151 milioane ha în anul 2018 urmată de o a doua pantă descendentă între anii 2019-2021.

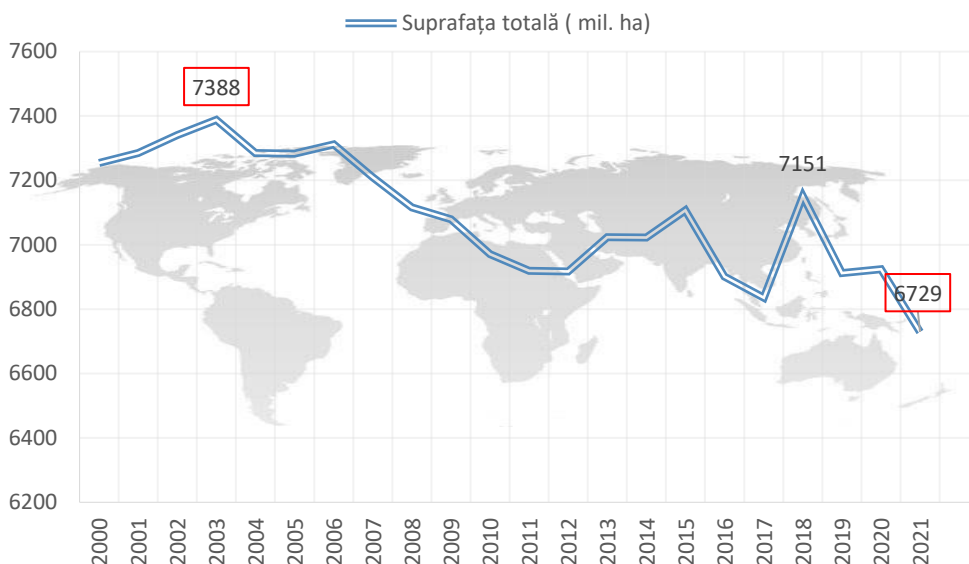


Figura 3.1 Evoluția suprafețelor plantațiilor cu viță de vie, la nivel mondial, în perioada 2000-2021

Figure 3.1 The evolution of the areas of vine plantations, worldwide, in the period 2000-2021
(<https://www.fao.org>)

Din punctul de vedere al producțiilor obținute la nivel mondial (figura 3.2.), se obțin peste 60 de milioane tone anual, minimul în ultimii 19 ani fiind în

2001, când s-a înregistrat o producție de 60,862 milioane tone, iar în anul 2018 s-a atins un prag maxim de 80,015 mil.tone.

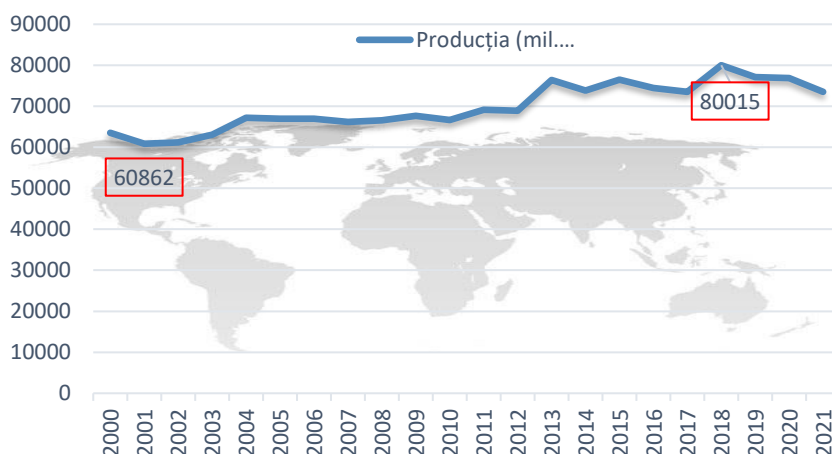


Figura 3.2 Evoluția producțiilor de struguri, la nivel mondial, în perioada 2000-2021

Figure 3.2 The evolution of grape production, worldwide, in the period 2000-2021

(<https://www.fao.org>)

De asemenea, o creștere însemnată a avut loc în perioada 2012-2013 când producția a crescut cu aproximativ 7,5 milioane de tone.

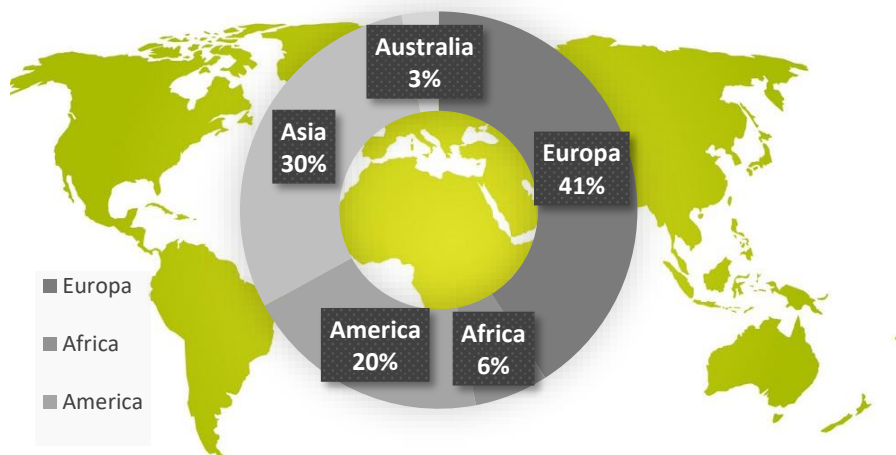


Figura 3.3 Ponderea producțiilor de struguri pe continente (media anilor 2000-2021)

Figure 3.3 Share of grape production by continent (2000-2021 average)

(<https://www.fao.org>)

Dacă analizăm ponderea producțiilor de struguri pe continente (figura 3.3), observăm că un loc fruntaș îl ocupă Europa cu 40,9%, urmată de Asia cu 30,1% iar pe ultimul loc, se află Australia cu doar 2,9% din producția mondială de struguri (pentru toate tipurile de utilizări).

3.2. Situația pe plan European și național

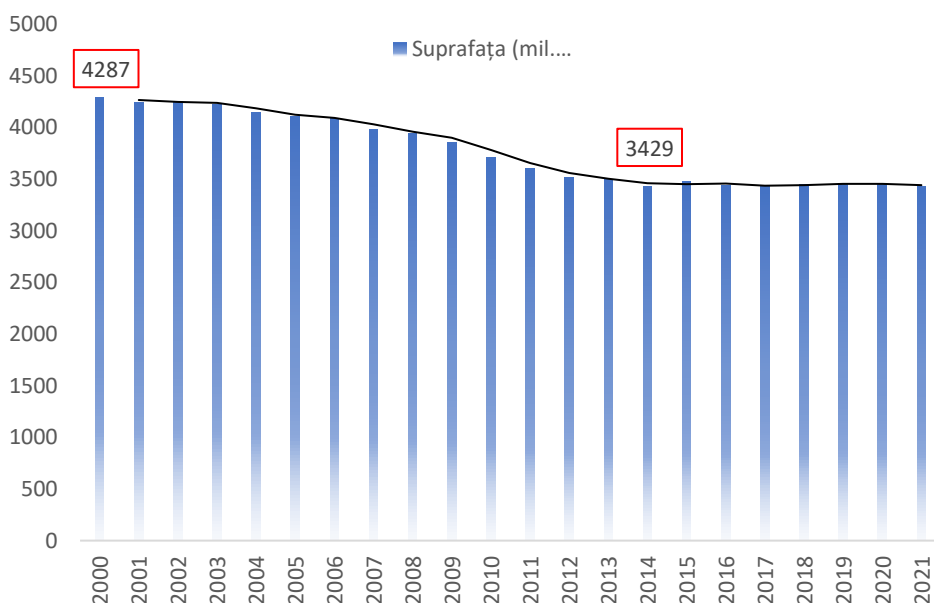


Figura 3.4 Suprafețele plantate cu viță de vie în Europa (2000-2021)

Figure 3.4 Area cultivated with vines in Europe (2000-2021)

(<https://www.fao.org>)

Pe teritoriul Europei, suprafețele plantate cu viță de vie (figura 3.4) au atins în anul 2000 pragul de peste 4,20 milioane de ha, ulterior teritoriul destinat podgoriilor scăzând an de an, ajungând la un minim de cca. 3,43 milioane de ha în anul 2014. După acest declin, dinamica suprafețelor destinate viței de vie au înregistrat o creștere de aproximativ 18 mii de ha, până în anul 2018. În perioada următoare, 2018-2021, suprafața plantată cu viță de vie s-a menținut aproximativ constantă.

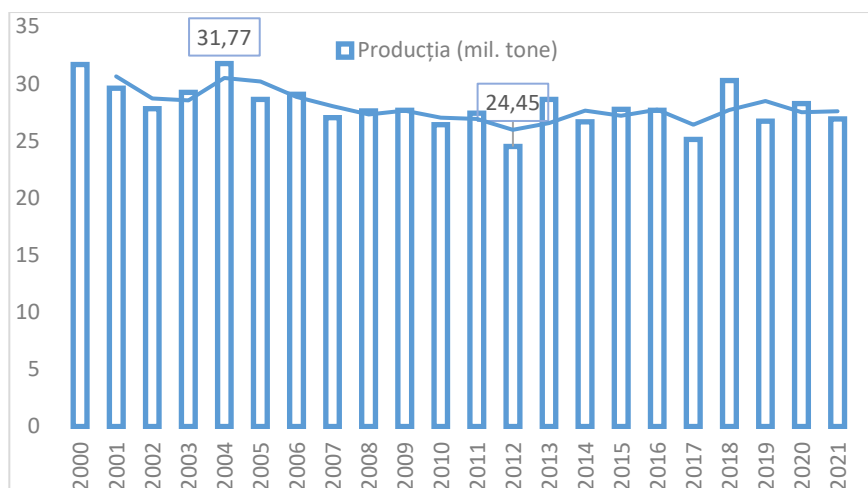


Figura 3.5 Producția de struguri în Europa (indiferent de utilizare) (2000-2021)

Figure 3.5 Production of grapes in Europe (regardless of use) (2000-2021)

(<https://www.fao.org>)

În ceea ce privesc producțiile de struguri din Europa, indiferent de utilizare, în ultimii 19 ani (Figura 3.5.) anul 2004 a înregistrat pragul cel mai ridicat cu aprox. 32 milioane de tone, în partea opusă fiind producția din anul 2012, când s-au realizat doar cca. 24 milioane de tone de struguri. Deasemenea, nu putem neglija producția din anul 2018, ce s-a ridicat la aprox. 30 milioane de tone, realizându-se o creștere record de peste 4,5 milioane de tone față de anul precedent, 2017.

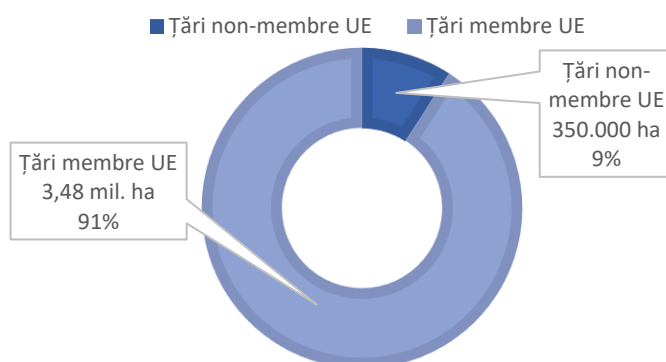


Figura 3.6 Suprafața și ponderea plantațiilor de viță de vie în Europa (media anilor 2000-2021)

Figure 3.6 Area and share of vine plantations in Europe (2000-2021 average)

(<https://www.fao.org>)

În țările membre ale Uniunii Europene, vița de vie ocupă aproximativ 3,5 milioane ha (figura 3.6.), ceea ce reprezintă cca. 91% din suprafața totală a podgoriilor, în timp ce țările non membre UE dețin doar 350 000 ha la nivel continental.

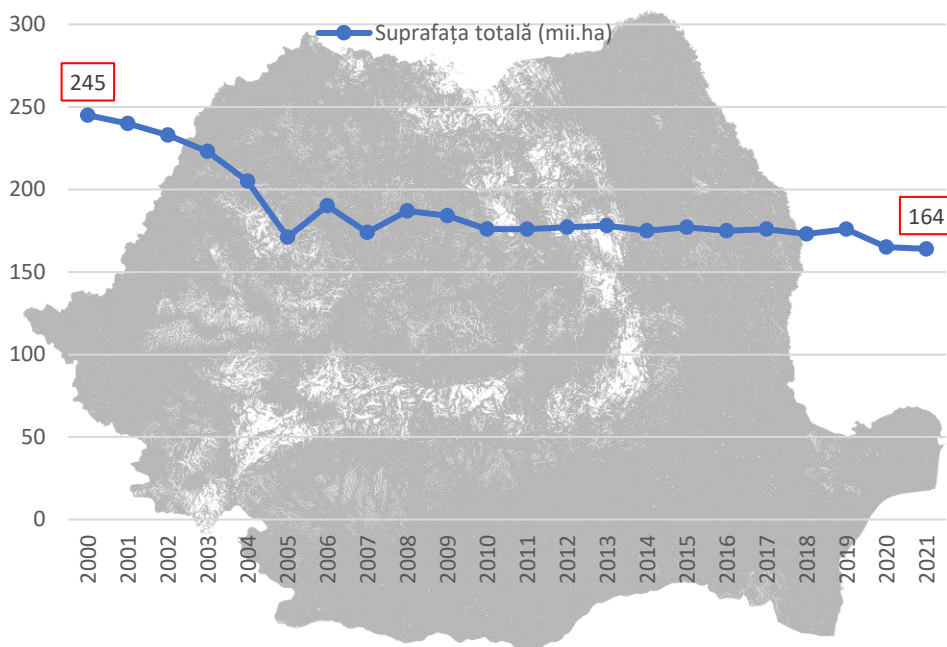


Figura 3.7 Dinamica suprafețelor plantațiilor de viță de vie în România (2000-2021)

Figure 3.7 The dynamics of the areas of vine plantations in Romania (2000-2021)

(<https://www.fao.org>)

În România, cultura viței de vie în ultimii 21 de ani a cunoscut fluctuații importante în privința suprafețelor ocupate (figura 3.7.), atingând un maxim în anul 2000 (peste 240 mii de ha) și un minim în anul 2021 (164 mii de ha). În perioada 2003-2008 s-au înregistrat scăderi considerabile privind numărul de hectare cultivate cu viță de vie pe teritoriul țării noastre. Dacă în anul 2003 erau aproximativ 205 mii ha de viță de vie în 2007 această cultură acoperea doar 174 mii ha.

În ceea ce privește producția de struguri din țara noastră, aceasta a atins un prag maxim de cca. 1,3 mil. tone în anul 2000 iar în anul 2005 producția a scăzut la jumătate, aprox. 500 mii tone.

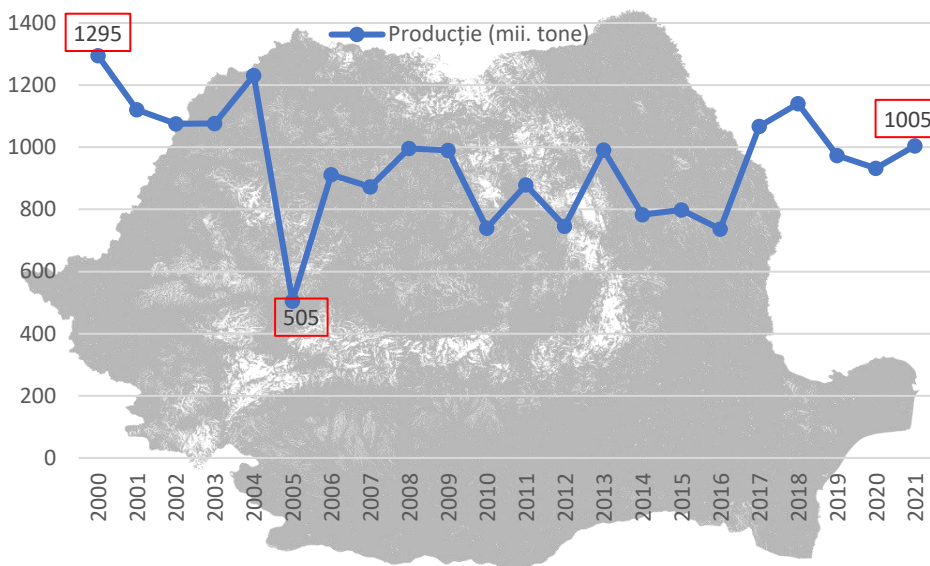


Figura 3.8 Producțiile de struguri (indiferent de utilizare) la nivel național în anii 2000-2021
Figure 3.8 Grape production (regardless of use) at national level in the years 2000-2021
<https://www.fao.org>

A urmat o perioadă de fluctuații, între anii 2006-2016, ulterior înregistrându-se o pantă ascendentă, până la valoarea de 1,1 mil. tone în 2018. Între anii 2018 și 2021 producția de struguri s-a menținut aproape de valoarea de 1 mil de tone.

4. LEVURILE ÎN SECTORUL VITI-VINICOL – IMPORTANȚĂ ȘI TAXONOMIE

4. OENOLOGICAL YEASTS – IMPORTANCE AND TAXONOMY

4.1. Importanța levurilor în sectorul viti-vinicol

Dovada necesității unor germeni pentru a provoca fermentația fusese făcută de Pasteur. Dar unde se aflau aceștia (în interior sau pe pielea bobului de strugure), când și de unde veneau ei, erau încă întrebări ce așteptau răspuns pentru a explica fermentația spontană a mustului de struguri (Popa A., 2004).

Prin experiențe simple dar ingenios concepute, tot el demonstrează în mod decisiv că în interiorul bobului sucul nu fermentează datorită absenței levurilor ci nu a aerului cum se credea inițial. Levurile se află pe pielea boabelor, dar nu de la formarea lor ci numai când încep să se coacă, pe cele verzi fiind absenți. De asemenea, s-a demonstrat că este necesar ca strugurii să se afle în aer liber, nu închiși în recipiente sau spații aseptice. Dar Pasteur nu putea preciza cauza diseminării levurilor și de ce era nevoie ca strugurii copti să fie în aer liber (Popa A., 2004).

Ulterior, Muller-Thurgau arată că în aer nu sunt levuri și că solul este locul în care acestea ierneză și în care se găsesc levuri (în medie de 25×10^3 celule/g) până la o adâncime de aproximativ 30-40cm.

Apoi diverse studii realizate dovedesc faptul că însuși solul viilor, încărcat cu levuri de la boabele căzute la cules, poate provoca fermentația alcoolică a mustului. S-a constatat că particulele de pământ purtate de vânt nu au importanță pentru împrăștierea levurilor.

Adevărații agenți purtători ai levurilor sunt însă stropii de ploaie căzuți pe sol, care răspândesc fragmente mici de pământ pe ciorchinii de la baza butucilor, apoi insectele ce intervin de când strugurii încep să se coacă, să conțină mult zahăr și să emane miros atrăgător.

La sfârșitul culesului o mare parte din levuri mor, altele rezistă în sol în stare de spori, altele sunt preluate de insectele hibernante (albine, viespi, drosophile) în retragerea lor de iarnă, iar în anul următor populează din nou mediul.

Un studiu detaliat al repartiției levurilor pe diferite părți ale strugurelui a arătat că pe tijă se întâlnesc puține levuri, dar pe suprafața pedicelului și a pielii bobului numărul lor este mare.

Atât cantitatea cât și calitatea levurilor de pe boabele de struguri sunt în funcție de condițiile climatice.

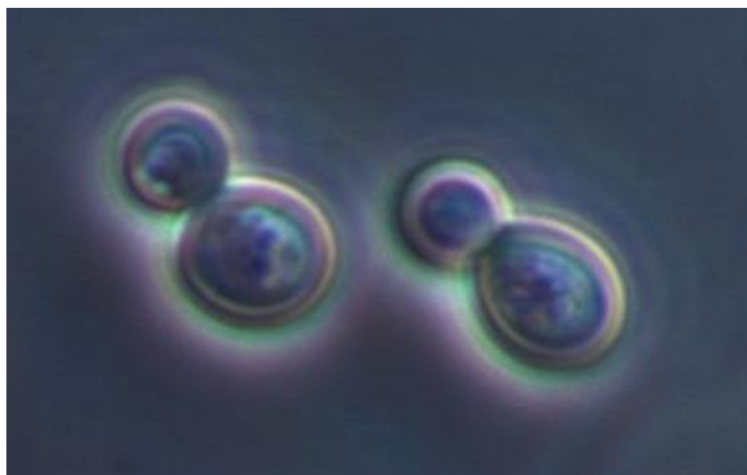


Figura 4.1 Imagine microscopică a celulelor de *Saccharomyces cerevisiae*

Figure 4.1 Microscopic image of *Saccharomyces cerevisiae* cells

(<http://genome.ucsc.edu>)

Levurile sunt definite ca ciuperci unicelulare aparținând subîncregăturilor *Ascomycotina* și *Deuteromycotina* ce se înmulțesc în principal pe cale vegetativă prin înmugurire sau fuziune (Kurtzman C.P. and Fell J.W., 1998). În prezent există aproximativ 1500 de specii levuriene identificate iar mărimea acestora poate varia în funcție de specie, măsurând în medie un diametru de 3-4 μm , unele specii ajungând chiar și la cca. 40 μm diametru.

Din punct de vedere oenologic, levurile nesporogene precum *Kloeckera*, *Candida*, *Torulospora*, *Kluyveromyces* pornesc și conduc procesul fermentației alcoolice până aproape de pragul alcoolic de 5-7% vol. alc., moment în care speciile *Saccharomyces* devin dominante, preluând astfel dirijarea fermentației. (Fleet G.H., Heard G.M., 1993; Romancino D. *et al.*, 2008; Sabate J. *et al.*, 1998; Demuyter C. *et al.*, 2004).

4.2. Taxonomia levurilor oenologice

4.2.1. Grupa levurilor *Saccharomyces sensu stricto*

Genul *Saccharomyces* se poate clasifica în funcții de criterii complexe în două grupe: *sensu stricto* și *sensu lato* conform Barnett J., 1992. Levurile *sensu*

stricto reprezintă speciile strâns înrudite cu *Sacch. cerevisiae* cum ar fi: *Sacch. cerevisiae*, *Sacch. bayanus*, *Sacch. paradoxus*, *Sacch. kudriavzevii* și *Sacch. mikatae* (Kurtzman C.P., Robnett C.J., 2003).

Dintre levurile din grupul *sensu stricto*, implicate în domeniul industriei alimentare, specia *Sacch. cerevisiae* este regăsită în oenologie, panificație, și industria berii, *Sacch. bayanus* prezintă interes în fermentația vinurilor și a cidrului în timp ce *Sacch. pastorianus* este responsabil de fermentația berii lager (Rainieri S. *et al.*, 2006).

4.2.2. Caracteristicile genomice ale levurilor întâlnite în vinificație

Grupa levurilor *sensu stricto* este caracterizată prin 16 tipuri de cromozomi diferiți, de dimensiuni diferite, fiecare specie având aparent un cariotip unic (Vaughan-Martini A., *et al.*, 1993). ADN-ul mitocondrial al acestora variază ca mărime între 64-85 kb și conține un număr de G+C clustere, printre care trei până la nouă dintre ele sunt secvențe tip ORI (Piskur J. *et al.*, 1998, Mechali M., 2010).

Polimorfismul molecular este larg răspândt în rândul drojdiilor *sensu stricto*, mai ales în cazul tulpinilor levurilor oenologice (Vezinhet F. *et al.*, 1990), și aproape fiecare drojdie izolată prezintă un cariotip caracteristic (Piskur J. *et al.*, 1998).

La nivel de laborator, speciile *sensu stricto* pot fi împerecheate la o frecvență joasă astfel luând naștere alți descendenți viabili. (Naumov G.I., 1996).

Specia caracteristică utilizată în prepararea berii lager, *Sacch. patorianus* (sin. *Sacch. carlsbergensis*) este un amfitetraploid parțial ce a apărut dintr-o interfuziune de încrucișare specifică între două drojdii diferite (Kielland-Brandt M. *et al.*, 1995). Dintre tulpinile parentale ale acestei încrucișări au fost *S. cerevisiae* iar a doua a specie se consideră a fi *S. monacensis* (Hansen J., Kielland-Brandt M., 1994; Pedersen M., 1986; Piskur J. *et al.*, 1998). În caracterizarea tulpinii *Sacch. patorianus* (sin. *Sacch. carlsbergensis*), ambele seturi de cromozomi parentali sunt prezente dar ADNmt (ADN mitocondrial) a fost moștenit doar de la partea parentală reprezentată de *Sacch. monacensis* (Kielland-Brandt M. *et al.*, 1995).

4.2.2.1. ADN-ul cromozomial al speciei *Saccharomyces cerevisiae*.

Saccharomyces cerevisiae prezintă un genom relativ mic, un număr mare de cromozomi, puțini introni și ADN repetitiv (Petering J. *et al.*, 1991). Tulpinile levuriene haploide conțin aproximativ 12-13 mb de ADNn, împărțiți

de-a lungul a 16 cromozomi liniari. Fiecare cromozom în parte reprezintă o moleculă de ADN cu lungimea cuprinsă între 200-2200 kb.

Genomul unei tulpini de *Saccharomyces cerevisiae* a fost complet secvențiat în laborator și s-a constatat că prezintă aproximativ 6000 de gene ce au proprietăți în codificarea proteinelor (Goffeau A. *et al.*, 1996). Genomul speciei *S. cerevisiae*, care este relativ îmbogățit în guanină și citozină (39-41% G+C), este mult mai compact în comparație cu genomul altor celule eucariote (Pretorius I., 2000).

4.2.2.2. Elementele extracromozomiale ale speciei *Saccharomyces cerevisiae*

Se cunoaște că există mai multe elemente genetice neereditare în nucleu, mitocondrii și citoplasmă. Genomul speciei *Sacch. cerevisiae* prezintă cca. 35-55 de copii de retrotranspozoni. Aceste elemente transpozabile se mișcă dintr-o locație genomică în alta prin ARNt folosind transcriptaza inversă. Plasmida ADN de 2 mm reprezintă singura plasmidă nucleară circulară apărută în mod natural și menținută stabil în genomul tulpinii *Sacch. cerevisiae*. Acest element extracromozomial este de asemenea moștenit în mod non-mendelian (neereditar), și deși majoritatea tulpinilor de *Sacch. cerevisiae* conțin cca. 50-100 de copii al acestui segment de 2 mm de ADN per celulă, funcția sa biologică nu a fost deocamdată descoperită (Friedl A. *et al.*, 2010).

4.3. Metabolismul levurian

Levurile prezintă un proces biochimic de asimilare pe parte anabolică și disimilare pe parte catabolică a nutrienților prin reacții enzimaticе. Procesele anabolice cuprind procese reductive ce conduc la producerea de material celular nou în timp ce partea catabolică prezintă procese oxidative ce au rolul de a produce energie. În cadrul acestor procese se utilizează NADP (nicotinamid adenin dinucleotid fosfat) sau NAD (nicotinamid adenin dinucleotid) cu rol de coenzime.

Majoritatea levurilor folosesc zaharuri ca principală sursă de carbon și energie, însă există și anumite specii ce pot utiliza surse de carbon neconvenționale.

În ceea ce privește metabolismul azotului, majoritatea speciilor levuriene sunt capabile să asimileze surse de azot simplu prin biosinteza aminoacizilor și a proteinelor. În privința metabolismului fosforului și a sulfului precum și aspecte ale metabolizării altor compuși anorganici, specia *Sacch. cerevisiae* a fost predominant studiată în detrimentul celorlalte specii levuriene.

4.3.1. Metabolismul energetic al levurilor

În cazul speciei *Sacch. cerevisiae* principala sursă de energie este glucoza, iar glicoliza este principala cale de transformare a glucozei în piruvat. Astfel, producerea de energie sub formă de ATP (Adenozin trifosfat) este corelată cu producerea de compuși intermediari și reduce capacitatea de biosinteză a NADH (Nicotinamid adenin dinucleotid forma redusă).

Din punct de vedere glicolitic și enzimatic pe parcursul procesului mecanismele de control ale carbonului și metabolismului energetic sunt adaptate nevoilor fiecărei specii sau tip de celulă. Organismele aerobe respiră piruvatul complet până la CO_2 și O_2 ca acceptor terminal de electroni, astfel utilizând la capacitate maximă transformările de energie pentru obținerea de ATP (Pretorius I., 2000). Cu toate acestea, organismele facultativ anaerobe se pot adăuga în procesul de fermentație pentru producerea de energie rapidă.

Ca de exemplu, glucoza este transformată în acid lactic în țesutul muscular uman. În mod similar, levurile oenologice trec la un metabolism fermentativ aerob rezultând ca produs principal etanolul de îndată ce glucoza depășește concentrația de 0, mM (Verduyn C. *et al.*, 1984) prin urmare, *Sacch. cerevisiae* alege procesul aerob în principal în funcție de nivelul de zahăr.

În timpul fermentației alcoolice a zaharurilor, levurile reoxidează NADH la NAD în două etape din piruvat, care este pentru început decarboxilat de enzima piruvat decarboxilază urmat apoi de reducerea acetaldehidei catalizată de alcool dehidrogenază (ADH). Concomitent, se formează glicerol din dihidroaceton-fosfat. Glicerolul este un produs secundar folosit la osmoreglarea levurilor osmotolerante care prezintă capacitatea de a se dezvolta în medii bogate în zahăr sau sare. Există drojdii ce se pot dezvolta pe mediu cu glicerol ca unică sursă de carbon în condiții aerobe, însă glicerolul este o sursă de carbon nefermentabilă pentru multe alte specii, inclusiv *Sacch. cerevisiae*.

Glicerolul este sintetizat prin reducerea dihidroxiaceton-fosfatului la glicerol 3-fosfat care este catalizat de NADH sub acțiunea ctGPD (dehidrogenază citosolică NAD^+ dependentă) urmată defosforilarea glicerol-3-fosfatului de către o fosfatază specifică -GPP (Gacendo C. *et al.*, 1968). Această cale se pare a fi singura formă de producere a glicerolului în celula de *Sacch. cerevisiae*.

4.3.2. Compușii secundari ai fermentației

Compușii secundari ai fermentației sunt cei ce decurg din procesul de vinificație, de obicei un rezultat al metabolismului levurian. Deși etanolul, glicerolul și dioxidul de carbon sunt superioare din punct de vedere cantitativ și

joacă un rol fundamental în aroma vinului, contribuția acestora la aroma secundară este relativ limitată (Esteve-Zarzoso B. *et al.*, 2000).

Acizii grași volatili, alcoolii superiori, esterii și într-o mică măsură, aldehidele, au o contribuție mai mare la aroma secundară (Rapp A., Versini G., 1991).

Acizii grași volatili

Principalul acid gras volatil este acidul acetic care reprezintă aproximativ 90% din total (Radler F., 1993). Restul acizilor grași, cum ar fi acidul propanoic și butanoic, se găsesc în cantități mici ca compuși ai metabolismului levurian. Acizii grași cu catenă lungă (C16 și C18) sunt precursori esențiali pentru sinteza a mai multor compuși lipidici din drojdie. În mod obișnuit, acești acizi nu apar în vin dar se regăsesc în produsele distilate în prezența drojdiilor. În schimb, acidul gras cu catenă intermediară (C8, C10 și C12) sunt prezenți alături de esterii lor etilici în vin.

Delfini C. și Cervetti F. în 1991 au clasificat speciile de levuri din genul *Saccharomyces* în trei clase în funcție de producția lor de acid acetic astfel: nivel mic (0-0,3 g/L), nivel mediu (0,31-0,60 g/L) și nivel ridicat (>0,61 g/L). În oricare din cele trei cazuri prezentate mai sus, acestea reprezintă un aspect nedorit pentru calitatea senzorială a vinului.

Alcoolii superiori

Alcoolii superiori sunt compuși din alcoolii alifatici și aromatici cum ar fi propanolul, alcoolul izobutlic și alcoolul amilic; din cei mai importanți alcoolii aromatici amintim alcoolul fenetic. Alcoolul izoamilic reprezintă principalul alcool alifatic sintetizat de celulele levuriene în procesul de fermentație. Alți alcoolii superiori importanți sunt alcoolul izobutlic și propanolul. Alcoolii superiori sunt de asemenea predecesori importanți în producerea esterilor (Soles R. *et al.*, 1982) iar esterii alcoolilor superiori sunt răspunzători de aromele plăcute ale vinurilor.

Esterii

Esterii reprezintă o grupă de compuși volatili întâlniți în vin ce imprimă acestora un miros plăcut. Majoritatea esterilor găsiți în băuturile alcoolice sunt produși de levuri în timpul fermentației ca produși secundari ai metabolismului glucidelor și reprezintă printre cele mai importante clase de compuși ce influențează aroma (Engan S., 1974; Peddie B., 1990). Cu toate acestea, o însușire particulară de aromă poate fi asociată extrem de rar cu un ester specific (Van Rooyen P. *et al.*, 1982). În general, concentrația de esteri din vinuri este peste pragul de percepție (Salo P., 1970).

PARTEA a II -a: CONTRIBUȚII PROPRII

PART II: PERSONAL CONTRIBUTIONS

5. CARACTERIZAREA CADRULUI NATURAL ÎN CARE S-AU EFECTUAT EXPERIMENTELE

5. NATURAL ENVIRONMENT CHARACTERIZATION WHERE EXPERIMENTS WERE CARRIED OUT

5.1. Așezarea geografică a câmpului experimental

Podgoria Copou Iași este în N-E Podișului Moldovei, pe cele 7 coline ale Iașului ce leagă Platoul Central al Moldovei de Câmpia colinară a Moldovei.

Dintre centrele viticole ale podgoriei Iași, reprezentative sunt următoarele: Copou-Șorogari (Valea Lupului, Reditu, Copou-Breazu, Aroneanu, Șorogari), Bucium (Vlădiceni, Pietrăria, Bârnova, Bucium, Vișan), Uricani (Uricani și Găureni), Comarna (Comarna și Curagău), Covasna (Cozia, Costuleni, Covasna, Hilița), Galata (Miroslava, Valea Adâncă, Balciu, Cetățuia, Hlincea și Galata), Bohotin (Isaia, Răducăneni, Bohotin).

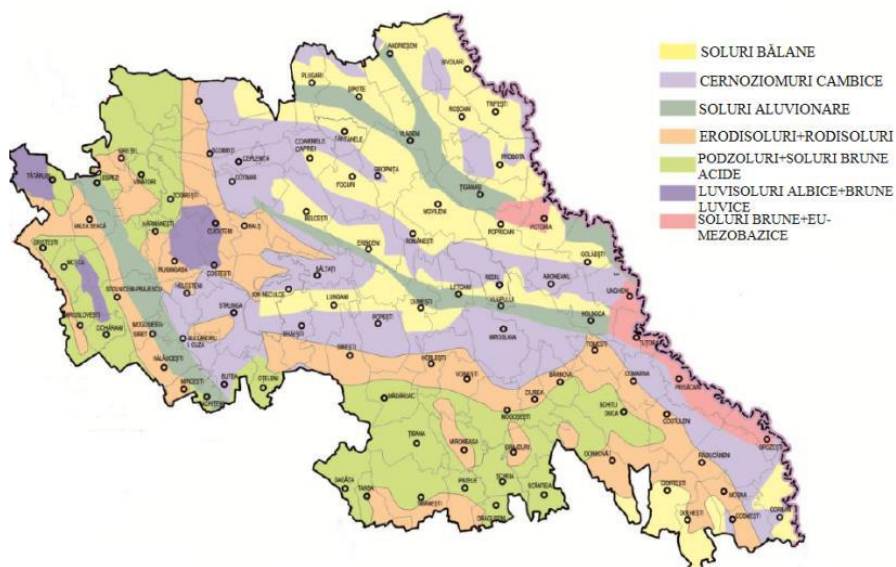


Figura 5.1 Structura pedologică a județului Iași

Figure 5.1 Pedological structure of Iasi County

(www.anpm.ro)

Experiența din prezenta teză de cercetare s-a realizat în Stațiunea Didactică Iași, Ferma „Vasile Adamachi” . Ferma se află amplasată în partea nord-vestică a municipiului Iași, fiind învecinată din punct de vedere cadastral cu Municipiul Iași (N-E), USV Iași (S-E), Grădina Botanică Iași (S), SC Vinicom Iași (S-V) și Colegiul Agricol și de Industrie Alimentară „Vasile Adamachi” Iași (N).

5.2. Geomorfologia, pedologia și hidrografia fermei

Câmpia Moldovei din punct de vedere structural se încadrează în Platforma Moldovenească, fiind cea mai veche platformă unitară din țară.

Zona este structurată pe două paliere, unul superior și altul inferior. Etajul inferior prezintă subdiviziuni în stil precambrian, având în constituție șisturi sedimentare cristaline. Nivelul de suprafață este alcătuit din roci sedimentare de proporții mari. Acest nivel, numit fundament, a trecut prin diverse schimbări ce au provocat sedimentarea și remodelarea stratului, măsurând în prezent o grosime de 100m. Din punct de vedere a compoziției, stratul este eterogen, prezentând părți de nisipuri cu gresii, marne și argile.

Din punct de vedere al habitatului viței de vie, Centrul viticol Copou Iași întrunește condițiile atât lito-morfopedologic cât și bioclimatic. Relieful prezintă terase (platouri) cu înclinări ușoare spre S, văi adâncite și zone cu eroziuni areolară. Panta versanților este de cca. 12-21% iar curbele de nivel sunt cuprinse între 90 cm și 170 cm.

În cadrul centrului viticol Copou, solurile s-au format sub influența reliefului deluros, a climatului de silvostepă și a acțiunilor antropice.

În cadrul fermei, 75% din suprafață este definită prin sol cernoziom degradat sever.

De asemenea, o principală cauză a alunecărilor de teren este reprezentată de apele de suprafață sub forma izvoarelor de coastă. În scop preventiv s-au realizat lucrări de drenaj la baza versanților, zonă caracterizată cu umiditate excesivă din cauza pânzei freatice, astfel captându-se izvoarele. În urma acestei acțiuni, apa rezultată este direcționată către irigarea culturilor legumicole, pomicele și viticole, iar surplusul este dirijat în rețeaua de scurgere.

Solul prezintă o reacție alcalină (0-140 cm) cu pH cuprins între 7,66 și 8,6 iar carbonatul de calciu se găsește de la o adâncime de aprox. 30 cm.

Din punct de vedere hidrografic, ecosistemul viticol din Podgoria Iași prezintă deficit atât calitativ cât și cantitativ.

Principalele râuri, Bahlui și Prut colectează pârâiașe cu debite limitate precum: Cîrlic, Valea Lungă, Cârlig, Breazu, Reditu, Nicolina, Valea Lupului, Cetățuia,

Vlădiceni, Tomești, Tătarca, Comarna, Covasna, Cozia, Moșna. Într-un an agricol, în perioada primăvară-vară se notifică ape mari și în toamnă-iarnă secări tranzitorii.

Lacurile din această zonă prezintă antropicitate, fiind utilizate în irigații și alte scopuri diverse. În zona Iașului, principalele lacuri sunt: Ciric, Cârlig, Valea Lupului, Reditu, Iezăreni, Chirița și Ciurbești.

Analizând chimismul hidrologiei, acesta se prezintă bicarbonatic, ioni de Mg și Ca preveniți din sedimentarea rocilor traversate ocupă rol principal. Apa râurilor Bahlui și Prut intră în clasa a III-a de calitate, de aceea utilizarea acestora în sens industrial, gospodăresc și agro-viticol impune epurarea apei.

În ceea ce privește vegetația spontană, stepa se întâlnește zonal, în proximitatea Bahluiului și a Prutului și insular pe pantele însoțite din preajma gramineelor: *Agropyrum cristatum* (pirul cristat), *Poa Bulbosa* (firuța), *Festuca valesiaca*, *Festuca pseudovina* (păiuș), *Stipa lessingiana* (colilia).

Silvostepa se regăsește în toate colinele din Câmpia Moldovei de Sud. Principalele specii de buruieni ce atacă plantațiile de viță de vie sunt: *Agropyron repens* (pir târător), *Convolvulus arvensis* (volbură), *Amaranthus retroflexus* (știr), *Setaria viridis* (mohor verde), *Cirsium arvense* (pălămidă).

5.3. Condițiile climatice înregistrate în perioada experimentală

5.3.1. Regimul termic în anii de experimentare

Anul agricol 2020-2021 s-a caracterizat ca fiind un an călduros, dar ploios, condițiile climatice fiind favorabile pentru majoritatea culturilor agricole.

În acest an agricol, cea mai ridicată temperatură lunară s-a înregistrat în luna iulie, 22,2°C, cu o abatere pozitivă față de media multianuală de +0,9°C. Temperatura medie lunară cea mai scăzută s-a înregistrat în luna februarie -0,8°C, cu o abatere de 1,1°C față de media multianuală (tabelul 3).

Luna ianuarie a înregistrat cea mai ridicată abatere pozitivă față de media multianuală, de 2,9°C. Temperatura maximă a anului agricol 2020-2021 a fost înregistrată în luna iulie, aceasta fiind de 32,8°C, iar în luna ianuarie a fost înregistrată temperatura minimă, care a fost de -8,3°C.

Toamna anului 2020 s-a caracterizat ca fiind mai călduroasă în comparație cu media multianuală. Luna octombrie a fost mai călduroasă cu 2,6°C față de normala termică.

Iarna a fost mai călduroasă față de media multianuală, pe parcursul celor trei luni de iarnă s-au înregistrat abateri cuprinse între 1,1°C în luna februarie și 2,9°C în luna ianuarie.

Primăvara anului agricol 2020-2021 a fost mai răcoroasă față de normal, cu abateri negative de 0,2°C (martie), 2,3°C (aprilie) și 1,2°C (mai). În aceste luni s-au înregistrat diferențe mari de temperatură de la zi la noapte, dar și de la o zi la alta, cu influențe negative asupra creșterii și dezvoltării plantelor de cultură.

Lunile iunie, iulie și august au fost călduroase. Temperatura maximă a anului agricol 2020-2021 a fost înregistrată în luna iulie, aceasta fiind de 32,8°C.

Luna septembrie a fost mai răcoroasă față de media multianuală (cu 1,9 °C mai puțin față de normal termică).

Anul 2021-2022 s-a caracterizat prin temperaturi ridicate comparativ cu anul precedent. Temperatura medie lunară cea mai mare a fost înregistrată în luna a 7-a (23°C) prezentând o abatere față de media multianuală de 1,7°C.

În tabelul nr. 5.1 sunt prezentate mediile lunare pentru anii agricoli 2020-2021 respectiv 2022 și abaterile temperaturilor lunare de la media multianuală.

Tabel 5.1/Table 5.1

Temperaturile înregistrate în perioada de cercetare (2021-2022) Temperatures recorded during the research period (2021-2022)													
Specificare	X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	Media
Anul agricol 2020-2021													
Temperaturi medii	12,7	3,9	1,7	-0,7	-0,8	3,1	7,8	14,9	19,8	22,2	20,9	14,4	10,0
Medii multianuale	10,1	4,1	-0,8	-3,6	-1,9	3,3	10,1	16,1	19,4	21,3	20,6	16,3	9,6
Abaterea + -	2,6	-0,2	2,5	2,9	1,1	-0,2	-2,3	-1,2	0,4	0,9	0,3	-1,9	0,4
Anul agricol 2021-2022													
Temperaturi medii	13,4	6,69	0,79	0,69	3,63	3,09	10,25	16,5	21,58	23,01	22,77	15,64	11,50
Medii multi anuale	10,1	4,1	-0,8	-3,6	-1,9	3,3	10,1	16,1	19,4	21,3	20,6	16,3	9,6
Abaterea + -	3,3	2,28	1,59	4,29	5,53	-0,21	0,15	0,4	2,18	1,71	2,17	-0,59	1,9

Comparativ cu anul precedent lunile aprilie, mai și iunie ale anului 2022 au înregistrat valori termice superioare prezentând abateri de la media multianuală de până la 2,18 °C în luna iunie, 0,4°C în mai și 0,15°C în luna aprilie.

Luna august a celui de-al doilea an de studiu a prezentat o medie termică de 23°C și o abatere de la media multianuală de 1,71°C.

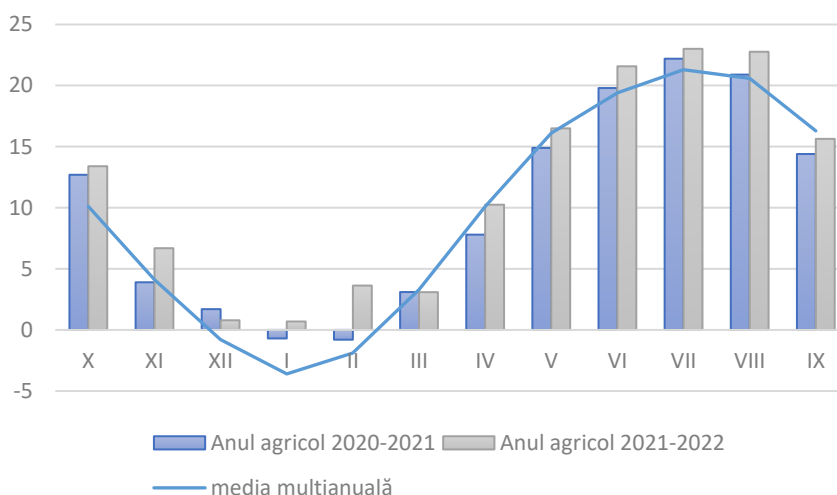


Figura 5.2 Regimul termic în anii de experiență
Figure 5.2 Thermal regime in years of experience

Toamna anului 2021-2022 a fost mai călduroasă decât media multianuală și mai secetoasă.

Iarna celui de-al doilea an de studiu a fost mai blândă comparativ cu anul precedent prezentând abateri pozitive atât în luna decembrie cât și în luna ianuarie față de media multianuală.

Luna februarie a prezentat abeterea cea mai mare față de media multianuală (5,53°C), media termică înregistrată fiind de 3,63°C.

5.3.2. Regimul pluviometric în anii de experimentare

Din punct de vedere al precipitațiilor, suma anuală pentru condițiile Stațiunii Didactice, Iași este de 517,8 mm iar suma lunară a anului agricol 2020-2021 a fost de 691,8 mm, cu 174 mm mai mult, abaterile lunare au fost cuprinse între -28,8 mm în luna octombrie și 98 mm în luna august. Lunile octombrie și noiembrie au fost mai secetoase, prezentând abateri negative de 28,8 mm și 20,4 mm în comparație cu media multianuală.

Tabel 5.2/Table 5.2

Precipitațiile înregistrate în perioada de cercetare (2021-2022)
Rainfall recorded during the research period (2021-2022)

Specificare	X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	Suma
Anul agricol 2020-2021													
Precipitații înregistrate	5,6	14,2	58,8	26,8	22,8	65,5	56,4	86	107,4	80,3	155,6	12,4	691,8
Medii multianuale	34,4	34,6	28,9	28,9	27,4	28,1	40,3	52,5	75,1	69,2	57,6	40,8	517,8
Abaterea + -	-28,8	-20,4	29,9	-2,1	-4,6	37,4	16,1	33,5	32,3	11,1	98	-28,4	174
Anul agricol 2021-2022													
Precipitații înregistrate	5,6	14,2	58,8	14,4	16,4	16	80,6	24	24,6	12	53	78	397,6
Medii multianuale	34,4	34,6	28,9	28,9	27,4	28,1	40,3	52,5	75,1	69,2	57,6	40,8	517,8
Abaterea + -	-28,8	-20,4	29,9	-14,5	-11	-12,1	40,3	-28,5	-50,5	-57,2	-4,6	37,2	-174,2

În tabelul nr. 5.2 sunt prezentate numeric precipitațiile înregistrate în perioada de cercetare (2021-2022) și abaterile lunare de la mediile multianuale.

Cele mai mici cantități de precipitații s-au înregistrat în lunile octombrie (5,6 mm cu o abatere negativă de 28,8 mm față de media multianuală), noiembrie (14,2 mm cu o abatere negativă de 20,4 mm față de media multianuală), ianuarie (26,8 mm, cu o abatere negativă de 2,1 mm față de media multianuală), februarie (22,8 mm, cu o abatere negativă de 4,6 mm față de media multianuală) și septembrie (12,4 mm, cu o abatere negativă de 28,4 mm față de media multianuală).

Din punct de vedere pluviometric pe parcursul iernii s-a înregistrat deficit, excepție fiind luna decembrie unde s-a înregistrat diferență pozitivă de 29,9 mm față de media multianuală.

Primăvara anului agricol 2020-2021 a fost mai ploioasă față de normal, prezentând diferențe pozitive de 37,4 mm (martie), 16,1 mm (aprilie), 33,5 mm (mai).

Lunile iunie, iulie și august au avut o abateri pozitive, de 32,3 mm, 11,1 mm, respective 98,0 mm.

Luna septembrie a fost mai secetoasă, înregistrând abateri negative față de media multianuală (cu 28,4 mm mai puțin față de normal).

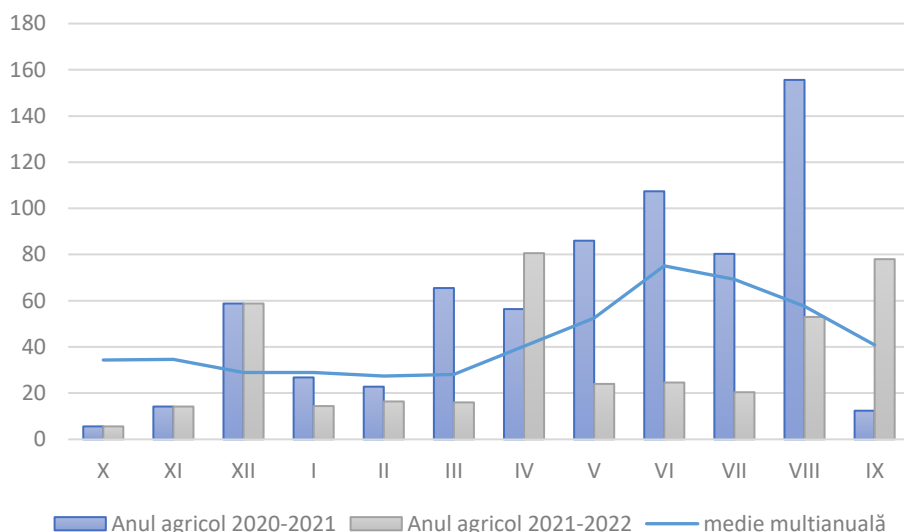


Figura 5.3 Regimul pluviometric în anii de experiență

Figure 5.3 Rainfall regime in years of experience

Suma lunară a primului an luat în studiu a înregistrat o valoare de 691,8 mm cu aprox. 174 mm mai mult, abaterile lunare fiind în intervalul -28 mm în luna a X-a și 98 mm în luna a VIII-a. Cantitățile minime de precipitații au fost în lunile octombrie, noiembrie, ianuarie, februarie și septembrie, abaterile de la media multianuală cuprinzându-se între -2,1 mm în ianuarie și -28 mm octombrie.

Anul 2021-2022 a prezentat o sumă anuală pluviometrică de cca. 397,6 mm înregistrând o abatere negativă de 120,2 mm comparativ cu suma multianuală a regimului pluviometric al Stațiunii Didactice Iași. Pe parcursul lunilor abaterile au fost între -57,2 mm în luna a 7-a și 40,3 mm în luna a IV-a.

Cel mai mic regim de precipitații a fost înregistrat în lunile octombrie și noiembrie prezentând caractere secetoase cu abateri negative de -28,8 mm și -20,4 mm comparativ cu media multianuală.

Lunile de iarnă au înregistrat deficit de precipitații cu excepția lunii decembrie unde a fost un surplus de precipitații de 29,9 mm față de media multianuală.

Primele două luni ale anului 2022 au prezentat precipitații minime cu valori cuprinse între 16 mm și 24 mm. Contrat acestor valori, solul a prezentat în luna aprilie o umiditate echilibrată, lună în care nivelul de precipitații s-a ridicat la o valoare de 80,6 mm.

Lunile de vară ale anului 2022 au fost secetoase, sărace în precipitații, prezentând abateri negative cuprinse între -50,5 mm în iunie și -4,6 mm în august.

Abateri pozitive față de media multianuală s-au înregistrat în luna septembrie unde nivelul de umiditate a înregistrat 78 mm, cu 37,2 mm superior față de media multianuală.

6. SCOPUL, OBIECTIVELE, MATERIALUL ȘI METODELE DE CERCETARE

6. AIMS, OBJECTIVES, MATERIAL AND METHODS

6.1. Scopul, obiectivele și importanța cercetărilor realizate

6.1.1. Scopul cercetărilor

Scopul prezentei teze de doctorat constă în stabilirea influenței tratamentelor fitosanitare asupra diversității și distribuției levurilor în condițiile centrului viticol Iași.

Studierea diversității și distribuției levurilor în domeniul vitivinicol se află în tendințele de cercetare științifică, atât la nivel național cât și internațional.

Atât tehnologia de cultură a viței de vie cât și oenologia, sunt activitățile oamenilor încă din cele mai înaintate timpuri.

În Europa, în clasamentul țărilor cu viticultură și vinificație, România, fiind țară vitivinicolă, se află pe locul cinci ca suprafață viticolă (după Spania, Franța, Italia, Portugalia), locul șase în ceea ce privește producția de struguri și locul șase în producția de vin.

În prezent, în interiorul granițelor noastre se găsesc circa 190.000 ha de viță de vie, reprezentând aproximativ 3% din suprafața viticolă mondială (FAO-The Food and Agriculture Organization).

În fiecare an pe teritoriul țării noastre se produc aproximativ 5 mil. hectolitri de vin.

Producerea pe scară largă a băuturilor alcoolice, îmbunătățirea și păstrarea calității acestora reprezintă o permanentă preocupare. Fermentația alcoolică a mustului constituie o verigă extrem de importantă în practica vinicolă, ea fiind asigurată de microflora levuriană.

Pentru combaterea dăunătorilor și agenților patogeni ai viței de vie se folosesc diferite fungicide și insecticide, care sunt compuși chimici anorganici sau organici. Este tot mai important de cunoscut, din punct de vedere oenologic, acțiunea secundară a acestora, întrucât o parte pot rămâne pe struguri și trec apoi în must. Prezența unor astfel de compuși chimici remanenți pe struguri inhibă de multe ori activitatea și capacitatea de înmulțire a levurilor, chiar în concentrații mici. Drept urmare, pornirea fermentației mustului este întârziată, iar desfășurarea procesului fermentativ este mult încetinită; uneori vinul rezultat capătă gust și miros străin. Astfel de consecințe se resimt mult mai intens când nu

se respectă în cadrul calendarului de tratamente fitosanitare perioada minimă recomandată până la recoltarea strugurilor.

6.1.2. Obiectivele cercetării

Pentru realizarea scopului propus au fost stabilite următoarele obiective:

🍇 aplicarea tratamentelor fitosanitare la cultura viței de vie conform calendarului corelat cu fenofazele de dezvoltare a plantelor;

🍇 izolarea și selecționarea sușelor levuriene prelevate din sol și plantă în diferite faze de dezvoltare a plantelor;

🍇 stabilirea influenței factorilor experimentali asupra diversității și distribuției levurilor în arealul viticol studiat;

🍇 stabilirea particularităților morfologice și fiziologice a tulpinilor de levuri izolate.

🍇 identificarea taxonomică a levurilor selecționate prin metode de extracție și secvențiere ADN (PCR)

6.2. Materialul de lucru și metodele de cercetare în câmp

6.2.1. Materialul biologic folosit în experiență

Activitatea de cercetare s-a realizat în cadrul Fermei didactice „Vasile Adamachi,, Iași în perioada 2020-2022.

În cadrul prezentei lucrări de cercetare doctorală au fost luați în studiu 3 soiuri de struguri pentru vin: Fetească Neagră, Fetească Albă și Busuioacă de Bohotin.



Figura 6.1 *Vitis vinifera* (A) Fetească Albă, (B) Fetească Neagră, (C) Busuioacă de Bohotin

**Figure 6.1 *Vitis vinifera* (A) Fetească Albă, (B) Fetească Neagră, (C) Busuioacă de Bohotin
(foto originală/original foto)**

Busuioacă de Bohotin

Reprezintă un soi de struguri pentru vinuri roșii superioare, originar din Bohotin, județul Iași. La nivel internațional este cunoscut și sub următoarele denumiri: Busuioacă de Moldova, Muskat violet de Madeira (Rusia), Muscat violet de Madere (Franța), Muscatto violetto (Italia), Moscatel gordomorado (Spania) și Muskateller violetter (Germania).

Din punct de vedere botanic, lăstarul este de culoare verde cu striatii cafenii, inflorescențele fiind fixate de lăstari la nodurile 5 și 6. Strugurii prezintă formă cilindrică având bacele îngrămădite și ușor teșite în ciorchine. Diametrul bobului este de cca. 17 mm, având nuanțe de violet închis cu tente vineții.

Pe latura rezistenței biologice, acest soi de struguri este sensibil la excesul de umiditate din sol și la secetă.

Analizând etapele fenologice, Busuioaca de Bohotin dez mugurește în luna aprilie iar la finalul lunii mai-prima decadă a lunii iunie înregistrându-se înflorirea. Faza de pârgă începe în luna august, strugurii ajungând la maturitatea deplină după mijlocul lunii septembrie (epoca a IV-a)

Sub aspect tehnologic, la maturitatea deplină strugurii prezintă o medie de 220-240 g/l zaharuri și o aciditate de 4 g/l H₂SO₄. Busuioaca de Bohotin prezintă o productivitate medie de 8 t/ha (Rotaru L., 2009)

Fetească Neagră

Este un soi de struguri pentru vin roșu autentic românesc, cultivat în țara noastră și în Republica Moldova. Internațional este întâlnit sub următoarele denumiri: Poama fetei năgră, Coada rândunicii, Fetyaska Chernaya, Leanyka Fekete, etc.

Sub aspect botanic, lăstarii prezintă o colorație roșie, intensă la noduri, inflorescențele fiind inserate pe lăstari la nodurile 5 și 6. Lungimea internodurilor este de 12-14 cm. Strugurii prezintă o formă conico-cilindrică, de 1,5 cm diametru.

Din punct de vedere fenologic, dez mugurirea începe în prima decadă a lunii aprilie iar înfloritul la finalul lunii mai-începutul lunii iunie. Perioada de pârgă începe în luna august ajungând la maturitatea deplină în a doua decadă a lunii septembrie (Rotaru L., 2009)

Fetească albă

Acest soi de struguri pentru vinuri superioare albe este considerat a fi printre cele mai redutabile soiuri românești, având vechime de mii de ani rezultând în urma selecției din Fetească neagră.

Din punct de vedere botanic, prezintă struguri mici-mijlocii de 90-100 g de formă cilindrică și conio-cilindrică de o colorație verde-gălbuie. Lăstarii sunt de culoare verde cu noduri slab roșcate.

Sub aspect fenologic, dez mugurirea începe relativ devreme, în prima decadă a lunii aprilie iar perioada de pârgă se inițiază în luna august ajungând la maturitatea deplină la finalul lunii septembrie (epoca a IV-a).

Pe latura tehnologică, soiul Fetească Albă acumulează 180-200 g/l zaharuri prezentând o aciditate cuprinsă între 4,5-7 g/l H₂SO₄. Producțiile medii se situează în intervalul 9-14 t/ha (Rotaru L., 2009)

Tabel 6.1/Table 6.1

Principalele însușiri tehnologice ale soiurilor luate în studiu

The main technological characteristics of the studied varieties

(după I.S.T.I.S., Rotaru L., 2009/ according to I.S.T.I.S., Rotaru L., 2009)

Caracteristici	Soiul		
	Busuioacă de Bohotin	Fetească albă	Fetească neagră
Greutatea medie a unui strugure (g)	147	133	130
Indice de productivitate relativ (g)	114	92	92
Greutatea a 100 de boabe (g)	195	137	141
Concentrația în zaharuri (g/l)	196,2	198,7	210
Aciditatea totală în must (g/l H₂SO₄)	6,1	5,2	5,5
Producția de struguri (t/ha)	10	12	7,5

6.2.2. Organizarea experienței

Pentru atingerea obiectivelor propuse în cadrul prezentei teze, activitatea de cercetare a fost organizată pe trei direcții:

-aplicarea tratamentelor fitosanitare conform tratamentului în funcție de fenofaza de dezvoltare a plantei.

-prelevarea probelor de sol și plantă conform tabelului nr. 6.2.

Probele din sol și plante au fost prelevate în trei fenofaze diferite de dezvoltare, după cum urmează: lăstar 5-7 cm, finalul înfloriturii și maturitate deplină (înainte de cules). Aceste fenofaze au fost alese prin prisma importanței lor în planul aplicării tratamentelor cât și în procesul dinamicii încărcăturii levuriene.

-izolarea sușelor levuriene din sol și de pe plante la nivel de laborator în vederea caracterizării morfologice și taxonomice a acestora.

Tabel 6.2/Table 6.2

Protocol de prelevare probe de sol și de pe plante		
Soil and plant sampling protocol		
Lăstar 5-7 cm		
Sol		
5-10 cm	10-15 cm	15-20cm
Sfârșitul înfloriturii		
Sol		Plantă/bace
5-10 cm	10-15 cm	15-20cm
Maturare deplină		
Sol		Plantă/bace
5-10 cm	10-15 cm	15-20cm

Factorii experimentali luați în studiu au fost:

○Factorul A: soiul de struguri, cu 4 graduări:

a₁ – Fetească Albă;

a₂ – Busuioacă de Bohotin;

a₃ – Fetească Neagră;

a₄ – Fetească Neagră colecție;

○Factorul B: sursa levurilor, cu 2 graduări:

b₁ – boabe/plantă; b₂ – sol

○Factorul C: fenofaza de prelevare a levurilor, cu 3 graduări:

c₁ – lăstar 5-7 cm;

c₂ –sfârșitul înfloritului;

c₃ – maturitate deplină

Cercetările din câmp au fost realizate în cadrul Fermei didactice „Vasile Adamachi” Iași în perioada 2021-2022 metoda de recoltare a probelor fiind cea a blocurilor randomizate în trei repetiții.

Plantația de viță de vie însumează 12,48 ha, fiind înființată în perioada toamnă-iarnă a anului 2014 precum și primăvară-vară a anului 2015.

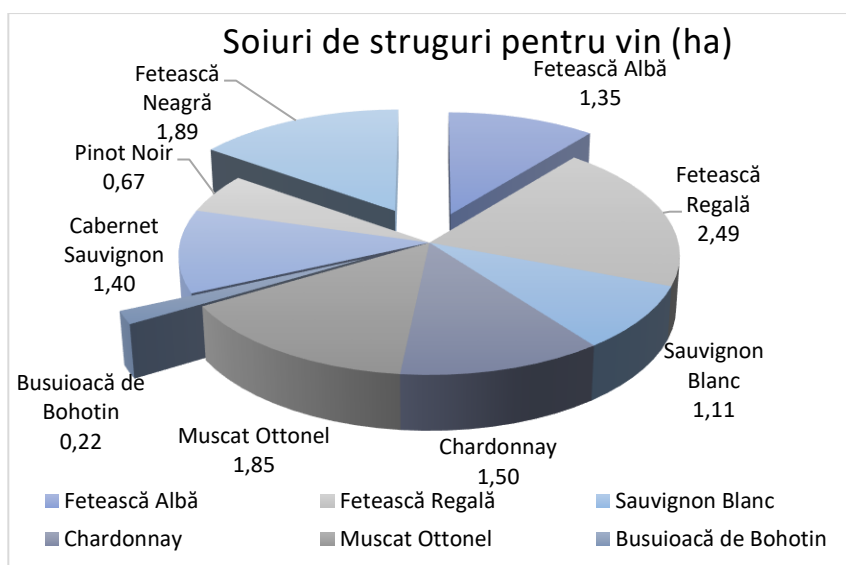


Figura 6.2 Ponderea soiurilor de struguri pentru vin în Ferma didactică „Vasile Adamachi”
Figure 6.2 Share of grape varieties for wine in the "Vasile Adamachi" research farm

În cadrul parcelei se întâlnesc următoarele distanțe de plantare:

- 2,3 m între rânduri (D)
- 1,20 m între plante pe rând (d)

Așadar, cunoscând aceste distanțe se poate calcula suprafața de nutriție a plantelor astfel:

$$D \times d = 2,3 \times 1,20 = 2,76 \text{ m.}$$

De asemenea, raportându-ne la suprafața de nutriție și la suprafața destinată fiecărui soi aflăm numărul de butuci pentru fiecare soi luat în studiu.

Tabel 6.3/Table 6.3

Suprafața pentru soiurile luate în studiu Cultivated area for studied grape varieties			
Nr. crt.	Soiul	Suprafața (ha)	Nr. butuci
1	Fetească Albă	1,35	4 891
2	Busuioacă de Bohotin	0,22	797
3	Fetească Neagră	1,89	6 849
Total		12,48	45 216

6.2.3. Metode de cercetare în câmpul experimental

Plantațiile viticole luate în studiu au fost analizate în vederea stabilirii dinamicii evoluției fiecărui soi, înregistrând astfel observații privind fazele de dezvoltare a plantelor, apariția eventualelor atacuri de boli și dăunători precum și tehnologia de aplicare a tratamentelor fitosanitare necesare.

6.2.3.1. Observații fenologice

Pe toată perioada de vegetație s-au realizat observații privind dinamica dezvoltării plantelor precum și perioada principalelor fenofaze, observațiile realizându-se pe câte 25 butuci din fiecare soi.

S-au analizat următoarele faze de dezvoltare:

- Dezmgurit – reprezintă o caracteristică a soiului fiind direct influențată de factorii climatici. În țara noastră această fenofază începe în prima decadă a lunii aprilie necesitând o sumă a temperaturilor cuprinsă între 120-160°C cu o temperatură medie mai mare de 10°C o perioadă de minimum 10 zile (Galet P., 1991). Vișele portaltui sunt cele ce inițiază dezmgurirea, fiind urmate îndeaproape de soiuri hibrizi direct producători.

- Creșterea lăstarilor – inițiază cu îngroșarea și creșterea mugurelui principal și se realizează prin distanțarea internodurilor formate în stadiul de mugure – max 15 internoduri.

Creșterea lăstarului este determinată de hormonul din apex AIA (auxină) ce se regăsește în cantități mai ridicate pe jumătatea însorită a lăstarilor.

Această fenofază durează în medie 120-140 de zile.

- Înflorit – această fenofază începe după aproximativ 55-65 de zile de la dez mugurit. Din punct de vedere fenologic, începutul înfloritului se marchează prin desfacerea primei flori. Calendaristic, fenofaza de înflorire are loc între 20 mai și 15 iunie (Irimia L., 2012)

- Pârğa – în acest moment, pielea bachelor își schimbă colorația, compactarea boabelor crește. La finalul perioadei de maturare, bacele au greutatea medie caracteristică soiului. Pârğa apare în aproximativ 24 ore de la maturarea bachelor fiind caracterizată prin creșterea și acumularea rapidă a zaharurilor. Această fază de dezvoltare apare în prima sau a doua decadă a lunii august, funcție de soi.

- Maturarea deplină a strugurilor coincide cu momentul în care bacele ajung la greutatea maximă conform soiului, cantitatea zaharurilor rămâne constantă iar semințele din punct de vedere fiziologic sunt mature. Maturitatea deplină apare după aproximativ 3-4 săptămâni de la începutul pârgei.

- Căderea frunzelor – această fază de dezvoltare a viței de vie marchează începutul repausului vegetativ ce apare de obicei la scăderea temperaturilor sub pragul minim de 10°C. În funcție de soi această fenofază apare începând cu a doua decadă a lunii octombrie-prima decadă a lunii noiembrie.

6.2.3.2. Măsurători realizate în vegetație

Pentru măsurătorile biometrice din vegetație, s-au luat în studiu 10 butuci din fiecare soi și s-au determinat prin următoarele metode:

Fertilitatea lăstarilor a fost determinată după finalizarea înfloritului, numărând inflorescențele, lăstarilor fertili și totali.

Coeficientul de fertilitate absolut (c.f.a.) se calculează împărțind numărul total de inflorescențe de pe butuc la numărul lăstarilor fertili (Dejeu L.C., Georgescu M., 2005).

Coeficientul de fertilitate relativ (c.f.r.) se calculează raportând numărul inflorescențelor de pe butuc, la numărul total de lăstari fie că prezintă inflorescențe sau nu (Pop N., 2010).

Pentru fiecare soi s-au luat în studiu 5 butuci realizându-se media atât pentru valoarea c.f.r. cât și pentru c.f.a.

Productivitatea soiurilor s-a calculat în faza de maturitate deplină a bachelor, când strugurii au atins greutatea maximă.

Indicele de productivitate relativ și indicele de productivitate absolut se calculează prin înmulțirea masei medii a unui strugure cu coeficientul de fertilitate relativ, respectiv absolut (Dobrei A., 2003).

Greutatea medie a unui strugure s-a determinat prin cântărire în cadrul fiecărui soi în 3 repetiții, probele luate spre cântărire fiind alese aleatoriu din diferite puncte ale parcelei. Rezultatul în cazul fiecărui soi luat în studiu a fost media celor 3 repetiții.

Determinarea creșterii lăstarilor

S-au realizat un număr de 3 măsurători în perioada iunie-iulie a celor doi ani de studiu. S-a determinat prin măsurarea cu ruleta în momentul creșterii intensive a lăstarilor și până în perioada de creștere regresivă-a doua decadă a lunii iulie după finalizarea înfloritului când creșterile intensive stagnează. În cazul fiecărui soi s-au luat în studiu 10 butuci, iar de la fiecare butuc s-au măsurat 10 lăstari.

6.2.3.3. Aplicarea tratamentelor fitosanitare

Plantațiile de viță de vie luate în studiu au fost tratate conform protocolului de tratamente fitosanitare din Ferma didactică „Vasile Adamachi” Iași.

Protocolul de tratamente fitosanitare a însumat un total de 8 tratamente , conform tabelului nr. 6.5, cu scopul de a realiza combaterea integrată a bolilor și dăunătorilor în cultura viței de vie.

Tratamentele fitosanitare au fost realizate cu ajutorul mașinii de stropit ATOM 1000 tip Bonțida în agregat cu tractor DT de 55CP.



Figura 6.3 Mașina pentru tratamente fitosanitare ATOM 1000

Figure 6.3 ATOM 1000 phytosanitary treatment machine

(foto originală/original photo)

În tabelul nr. 6.5. sunt prezentate treptat tratamentele fitosanitare realizate în anii de studiu în condițiile Centrului Viticol Copou Iași.

Tabel 6.4/Table 6.4

Produsele fitosanitare utilizate în plantațiile viticole în anii 2021-2022 în Ferma Didactică „Vasile Adamachi” Iași
Phytosanitary products used in the vineyards in 2021-2022 in the Didactic Farm "Vasile Adamachi" Iasi

<i>Tratament</i>	<i>Compoziție</i>	<i>Concentrație</i>	<i>Spectru de acțiune</i>
Polisulfură de Calciu	• Sulf 18% • Hidrocid de calciu 10%	2%	Fungicid - <i>Uncinula necator, Botrytis cinerea</i>
Acrobat® MZ 69 WG	• Dimetomorf 9% • Mancozeb 60 %	0,22%	Fungicid - <i>Plasmopara viticola</i>
Bumper® 250 EC	• Propiconazol 25%l	0,02%	Fungicid – <i>Uncinula necator</i>
Vertimec® 1.8 EC	• Abamectin 1,8%	0,07- 0,1 %	Insecticid – <i>Lobesia Botrana</i> (Eudemis) <i>Eriophyes vitis</i> (Acarianul galicol)
Mikal Flash®	• Fosetil de aluminiu 50% • Folpet 25%	3%	Fungicid – <i>Plasmopara viticola</i>
Decis® 25 WG	• Deltametrin 25%	3%	Insecticid – <i>Lobesia Botrana</i> (Eudemis)
Ridomil Gold® MZ 68 WG	• Mancozeb 64% • Mefenoxam 4%	0,25 %	Fungicid – <i>Plasmopara viticola</i>
Curzate® F	• Folpet 38% • Cimoxanil 3,8%	0,25%	Fungicid – <i>Plasmopara viticola</i>
Topsin® 70 WDG	• Tiofenat metil 70%	0,10%	Fungicid – <i>Uncinula necator</i>

Folpan® 80 WDG	Folpet 80%	0,15%	Fungicid – <i>Plasmopara viticola</i> <i>Botrytis cinerea</i>
Kumulus® DF	Sulf 80%	0,3%	Fungicid – <i>Uncinula necator</i>
Melody compact® 49 WG	- Oxiclorură de Cupru 41% - Iprovalicarb 8%	0,15	Fungicid – <i>Plasmopara viticola</i>
Dithane® M-45	Mancozeb 80%	0,2%	Fungicid - <i>Plasmopara viticola</i> <i>Botrytis cinerea</i>
Fusilade Forte® 150 EC	Fluazifop-p-butil 15%	0,1%	Erbicid – Buruieni monocotiledonate anuale și perene
Cropmax®	- N: 0,2% - P: 0,4% - K: 0,02% - Fe: 0,02% - Mg: 0,04% - Cupru: 0,003% - Aminoacizi organici - Enzime vegetale - Stimulatori de creștere	0,1%	Îngrășământ foliar

Produsele comerciale ce au fost utilizate la tratamente sunt:

- *Polisulfură de Calciu* tip MIF întâlnită și sub denumirea de *zeamă sulfocalcică*. Acest produs are acțiune fungicidă de contact.
- *Acrobat[®] MZ 69 WG* (BASF) - prezintă acțiune fungicidă, sub formă de granule dispersabile în apă. Acest fungicid conține dimetomorf ce face parte din clasa morfinelor și mancozeb din clasa ditiocarbonaților.
- *Bumper[®] 250 EC* (ADAMA) – prezintă acțiune fungicidă având ca substanță activă propiconazolul, din grupa triazolilor.
- *Vertimec[®] 1.8 EC* (SYNGENTA) – insecticid sub formă de concentrat emulsioabil.
- *Mikal Flash[®]* (BAYER) – are acțiune fungicidă sub formă de granule dispersabile în apă.
- *Decis[®] 25 WG* (BAYER) – prezintă acțiune insecticidă, întâlnindu-se sub formă de granule dispersabile în apă.
- *Ridomil Gold[®] MZ 68 WG* (SYNGENTA) – reprezintă un fungicid cu acțiune acropetală și de contact, fiind găsit sub formă de granule dispersabile în apă.
- *Curzate[®] F* – prezintă acțiune fungicidă sistemică sub formă de suspensie concentrată.
- *Folpan[®] 80 WDG* (ADAMA) – reprezintă un fungicid din clasa ftalimidelor având acțiune de contact.
- *Topsin[®] 70 WG* - fungicid cu acțiune sistemică sub formă de granule dispersabile în apă.
- *Kumulus[®] DF* (BASF) – reprezintă un fungicid pe bază de sulf sub formă de granule dispersabile în apă.
- *Cropmax[®]* (HOLLAND FARMING) – acest produs este un stimulator de creștere foliară ce are la bază combinația între microelemente, aminoacizi, vitamine și polizaharide. Prezintă o acțiune sistemică.
- *Melody Compact 49 WG[®]* (BAYER) – sub formă de granule dispersabile în apă, este un fungicid de contact și sistemic.
- *Zeamă bordoleză* tip MIF – utilizat ca fungicid sub formă de pulbere umectabilă.
- *Dithane M-45-* fungicid de contact cu acțiune curativă și preventivă.
- *Fusilade Forte 150 EC[®]* (SYNGENTA) – reprezintă un erbicid postemergent împotriva buruienilor monocotiledonate anuale și perene.

Tabel 6.5/Table 6.5

Schemă tehnologică de aplicare a tratamentelor fitosanitare în condițiile Fermei didactice „Vasile Adamachi” Iași în anii 2021-2022
 Technological scheme for the application of phytosanitary treatments under the conditions of the research farm "Vasile Adamachi" Iași in the years 2021-2022

Nr. crt.	Anul aplicării	Fenofaza	Scala BBCH	Spectru de acțiune	Produsul utilizat	Doza %
1.	2021 2022	 Repaus vegetativ	00	<i>Uncinula necator</i> (făinearea viței de vie) <i>Botritys cinerea</i> (putregaiul cenușiu al viței de vie)	Polisulfură de Calciu	2
2.	2021		11-19	<i>Plasmopara viticola</i> (mana viței de vie) <i>Botritys cinerea</i> (putregaiul cenușiu al viței de vie)	Dithane® M-45	0,2
	2022	Lăstar 5-7 cm	11-19	<i>Plasmopara viticola</i> (mana viței de vie)	Acrobat® MZ 69 WG	0,22
3.	2021 2022	 Lăstar 20-40 cm	51-53	<i>Uncinula necator</i> (făinearea viței de vie)	Bumper® 250 EC	0,02
				<i>Plasmopara viticola</i> (mana viței de vie)	Mikal Flash®	3
4.	2021		57-60	<i>Plasmopara viticola</i> (mana viței de vie)	Melody compact® 49 WG	0,15

2022			<i>Lobesia Botrana</i> (Eudemis)	Decis® 25 WG	3
			Buruieni monocotiledonate anuale și perene	Fusilade Forte® 150 EC	0,1
	Înainte de înflorit				
5.			<i>Plasmopara viticola</i> (mana viței de vie)	Ridomil Gold® MZ 68 WG	0,25
2021 2022		70-75	<i>Uncinula necator</i> (făinearea viței de vie)	Topsin® 70 WDG	0,10
	Finalul înfloriturii		<i>Plasmopara viticola</i> (mana viței de vie)	Folpan® 80 WDG	0,15
			<i>Lobesia Botrana</i> (Eudemis)	Vertimec® 1.8 EC	0,1
6.			<i>Eriophyes vitis</i> (Acarianul galicol)		
			Îngrășământ foliar	Cropmax®	0,1
7.			<i>Uncinula necator</i> (făinearea viței de vie)	Kumulus® DF	0,3
2021 2022		77-79			
	Compactarea ciorchinilor		<i>Plasmopara viticola</i> (mana viței de vie)	Curzate® F	0,25
8.			<i>Plasmopara viticola</i> (mana viței de vie)	Dithane® M-45	0,2
2021		80-85	<i>Botrytis cinerea</i> (putregaiul cenușiu al viței de vie)		
2022	Pârgă		<i>Plasmopara viticola</i> (mana viței de vie)	Acrobat® MZ 69 WG	0,22

6.2.3.4. Prelevarea probelor din sol și de pe plante

Prelevarea probelor de sol din plantațiile luate în studiu

Atât în primul an de studiu (2021) cât și în al doilea an (2022) s-au realizat prelevări de probe de sol în diferite fenofaze de dezvoltare a plantei în vederea izolării sușelor levuriene specifice arealului viticol.

Prelevarea probelor de sol s-a realizat pe 3 adâncimi, a câte 3 repetiții pentru fiecare din cele 4 soiuri de struguri

Adâncimile luate în studiu au fost:

- ❖ 5-10 cm
- ❖ 10-15 cm
- ❖ 15-20 cm

În cazul fiecărei adâncimi de prelevare pentru fiecare soi s-au realizat 3 probe parțiale de aceeași greutate (aproximativ 100g). Punctele de prelevare a probelor parțiale s-au realizat prelevând prin metoda zig-zag (figura 6.7) ce asigură o uniformitate ridicată a prelevării. Probele parțiale au fost ulterior amestecate în vederea obținerii probei medii. Schema de prelevare a solului a exclus zonele marginale ale parcelelor/rândurilor.

S-au efectuat 4 prelevări de sol conform protocolului experimental după cum urmează:

I. Primele probe au fost prelevate cu 3 zile înainte de aplicarea primului tratament la vița de vie în fenofaza de lăstar 5-7 cm (BBCH 53).



Figura 6.4 Fenofaza de lăstar 5-7 cm, în condițiile Fermei Didactice „Vasile Adamachi” Iași

Figure 6.4 Shoot phenophase 5-7 cm, under the conditions of the "Vasile Adamachi"

Research Farm Iași

(foto originală/original photo)

II. Cea de a doua prelevare de sol s-a realizat la 7 zile după aplicarea tratamentului împotriva agenților patogeni *Plasmopara viticola* și *Botrytis cinerea* ce provoacă Mana respectiv putregaiul cenușiu al viței de vie.

III. Al treilea rând de probe de sol s-a realizat la sfârșitul înfloritului (BBCH 69).



Figura 6.5 Finalul înfloritului, în condițiile Fermei Didactice „Vasile Adamachi” Iași

Figure 6.5 The end of flowering, under the conditions of the Research Farm "Vasile Adamachi" Iași

(foto originală/original photo)

IV. Ultimele probe de sol au fost prelevate în fenofaza de maturitate deplină a strugurilor (BBCH 89).

Probele de sol au fost prelevate cu ajutorul sondei pedologice pentru analiza solului. (figura. 6.6). Solul prelevat a fost colectat în pungi de hârtie sterile și transportat la Laboratorul de Microbiologie al Universității de Științe Vieții „Ion Ionescu de la Brad” Iași.



Figura 6.6 Sondă pedologică pentru prelevare sol

Figure 6.6 Pedological probe for soil sampling

(<https://agrointel.ro/>)

Prelevarea probelor de pe plantele tratate

În ceea ce privesc probele de pe plante, acestea au fost prelevate în două fenofaze diferite de dezvoltare: la finalul înfloritului și la maturitatea deplină.

Colectarea probelor a constat în prelevarea părților din plantă în funcție de fenofază (finalul înfloritului – flori respectiv maturitate deplină – bace) din minim 3 rânduri diferite ale plantației, fiind excluși butașii și rândurile marginale.

La fel ca în cazul probelor de sol, prelevarea plantelor s-a realizat prin stabilirea punctelor de prelevare a probelor parțiale cu scopul de a spori uniformitatea prelevării. În cadrul fiecărei probe medii, corelată fiecărui soi, s-au colectat câte 3 probe parțiale prin metoda zig-zag (figura 6.7.).

La finalul înfloritului fiecare probă parțială a conținut 2 flori cu capișoanele căzute. În cadrul fiecărui soi proba medie a fost alcătuită din 6 flori prelevate din diverse puncte ale rândurilor și parcelor.

La maturitatea deplină, probele parțiale au conținut 2 ciorchini de aproximativ aceeași greutate. Proba medie pentru fiecare soi a constat în 6 ciorchini de aproximativ aceeași greutate.

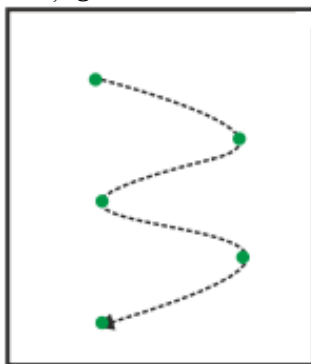


Figura 6.7 Metoda de prelevare a probelor parțiale în zig-zag

Figure 6.7 The zig-zag sampling method

[\(https://agrointel.ro/\)](https://agrointel.ro/)

Atât în cazul probelor recoltate la finalul înfloritului cât și la maturitatea deplină s-au prelevat și luat în studiu doar părțile sănătoase ale plantelor, fără urme vizibile de atacuri de dăunători sau boli.

Probele prelevate au fost colectate în pungi de hârtie sterile și transportate la Laboratorul de Microbiologie al Universității de Științe Vieții „Ion Ionescu de la Brad” Iași.

6.3. Metode de cercetare în laborator

Probele recoltate din plantațiile viticole au fost prelucrate prin diferite metode conform protocolului de lucru în vederea obținerii culturilor pure de levuri.

Analizele de însămânțare, multiplicare și izolare s-au realizat în laboratorul de cercetare aferent disciplinei de Microbiologie și Fitopatologie al Universității de Științele Vieții „Ion Ionescu de la Brad” Iași.

Tulpinile levurice izolate din microflora spontană în condițiile Centrului Viticol Copou au fost prelucrate și analizate în vederea secvențierii genomice prin tehnica PCR în cadrul Laboratorului *BMR Genomics* din Padova, Italia, laborator specializat în secvențierea Sanger.

6.3.1. Izolarea sușelor de levuri din probele de sol și plante

Probele prelevate în câmp au fost prelucrate la nivel de laborator în vederea însămânțării pe mediu nutritiv.

Metoda utilizată pentru însămânțarea sușelor levuriene a fost cea a diluțiilor succesive, folosind astfel ca surse de izolare sol curățat și mojarat respectiv apa de spălare a inflorescențelor/bacelor.

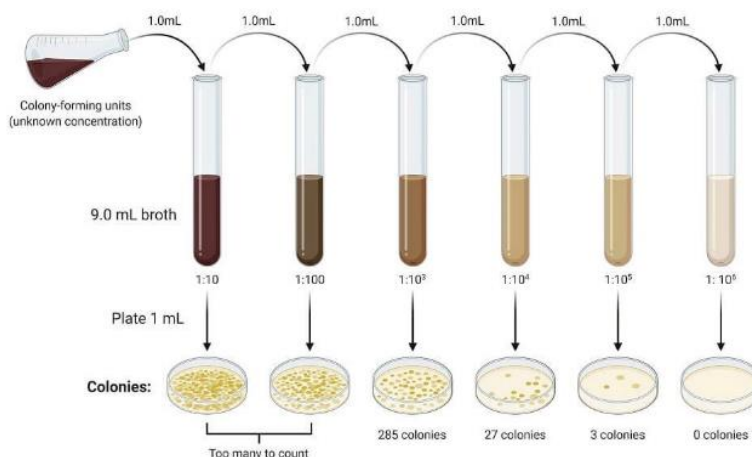


Figura 6.8 Metoda diluțiilor succesive

Figure 6.8 The method of successive dilutions

[\(https://microbeonline.com/serial-dilution-method/\)](https://microbeonline.com/serial-dilution-method/)

Pregătirea probelor de sol

Solul prelevat a fost supus operației de zvântare timp de 24h, apoi a fost curățat de eventuale impurități și resturi vegetale.

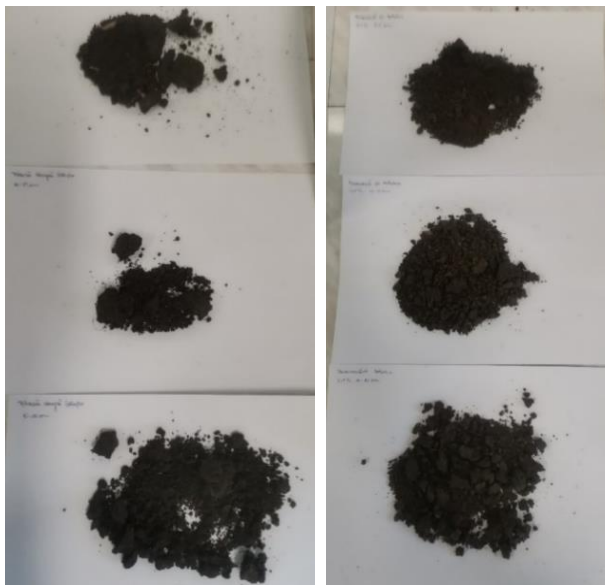


Figura 6.9 Etapa de zvântare a probelor de sol

Figure 6.9 The stage of shaking soil samples

(foto originală/original photo)

Apoi solul a fost sfărâmat și omogenizat cu ajutorul unui mojar cu pistil.

Figura 6.10 Etapa de mojarare a solului



Figure 6.10 The stage of mortaring the soil

(foto originale/original photos)

Pregătirea probelor din plante

Bacele sănătoase și fără urme de atacuri de dăunători și boli au fost numărate, fiind utilizate 50 de boabe din proba medie de la fiecare din cele 4 soiuri. În ceea ce privește inflorescențele, s-au utilizat 2 ciorchini din fiecare probă medie.



Figura 6.11 Izolarea levurilor prin metoda de spălare a bachelor

Figure 6.11 Yeasts isolation by the berry washing method

[\(foto originală/original photo\)](#)

Probele prelevate din plante au fost spălate cu apă distilată. În urma acestei operații rezultând ca surse de izolare apa de spălare a bachelor respectiv a inflorescențelor/ciorchinilor.



Figura 6.12 Izolarea levurilor prin metoda de spălare a inflorescențelor

Figure 6.12 Yeasts isolation by the inflorescence washing method

[\(foto originală/original photo\)](#)

În vederea obținerii diluțiilor, s-a cântărit câte 1g de sol respectiv 1ml din apa de spălare a boabelor urmărind protocolul conform metodologiei standard de obținere a diluțiilor (figura 6.8).

Însămânțările s-au realizat conform tabelului 6.5 utilizând diluțiile 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} și 10^{-6} în diverse repetiții.

Tabel 6.6/Table 6.6

Distribuția diluțiilor pe soiuri și surse de prelevare
Distribution of dilutions by varieties and sampling sources

Soiuri								
Sursa de prelevare	Busuioaca de Bohotin (B)		Fetească Albă (A)		Fetească Neagră (N)		Fetească Neagră Colecție (C)	
Sol 5-10 cm (A)	10^{-3}	3 repetiții	10^{-3}	3 repetiții	10^{-3}	3 repetiții	10^{-3}	3 repetiții
	10^{-4}	3 repetiții	10^{-4}	3 repetiții	10^{-4}	3 repetiții	10^{-4}	3 repetiții
	10^{-5}	2 repetiții	10^{-5}	2 repetiții	10^{-5}	2 repetiții	10^{-5}	2 repetiții
	10^{-6}	2 repetiții	10^{-6}	2 repetiții	10^{-6}	2 repetiții	10^{-6}	2 repetiții
Sol 10-15 cm (B)	10^{-3}	3 repetiții	10^{-3}	3 repetiții	10^{-3}	3 repetiții	10^{-3}	3 repetiții
	10^{-4}	3 repetiții	10^{-4}	3 repetiții	10^{-4}	3 repetiții	10^{-4}	3 repetiții
	10^{-5}	2 repetiții	10^{-5}	2 repetiții	10^{-5}	2 repetiții	10^{-5}	2 repetiții
	10^{-6}	2 repetiții	10^{-6}	2 repetiții	10^{-6}	2 repetiții	10^{-6}	2 repetiții
Sol 15-20 cm (C)	10^{-3}	3 repetiții	10^{-3}	3 repetiții	10^{-3}	3 repetiții	10^{-3}	3 repetiții
	10^{-4}	3 repetiții	10^{-4}	3 repetiții	10^{-4}	3 repetiții	10^{-4}	3 repetiții
	10^{-5}	2 repetiții	10^{-5}	2 repetiții	10^{-5}	2 repetiții	10^{-5}	2 repetiții
	10^{-6}	2 repetiții	10^{-6}	2 repetiții	10^{-6}	2 repetiții	10^{-6}	2 repetiții
Plantă Bace/inflorescențe (P)	10^{-3}	3 repetiții	10^{-3}	3 repetiții	10^{-3}	3 repetiții	10^{-3}	3 repetiții
	10^{-4}	3 repetiții	10^{-4}	3 repetiții	10^{-4}	3 repetiții	10^{-4}	3 repetiții
	10^{-5}	2 repetiții	10^{-5}	2 repetiții	10^{-5}	2 repetiții	10^{-5}	2 repetiții
	10^{-6}	2 repetiții	10^{-6}	2 repetiții	10^{-6}	2 repetiții	10^{-6}	2 repetiții

Însămânțarea s-a realizat pe mediul de cultură GPCA (Glucose Peptone Chloramphenicol Agar) prin adăugarea unui ml de diluție în fiecare placă Petri prin încorporare în mediu.



Figura 6.13 Realizarea diluțiilor și inocularea în plăci Petri
Figure 6.13 Making dilutions and inoculating in Petri dishes
(foto originale/original photos)

După însămânțare în mediu nutritiv, probele au fost introduse la termostat la 28°C timp de 3-5 zile în vederea dezvoltării microorganismelor.

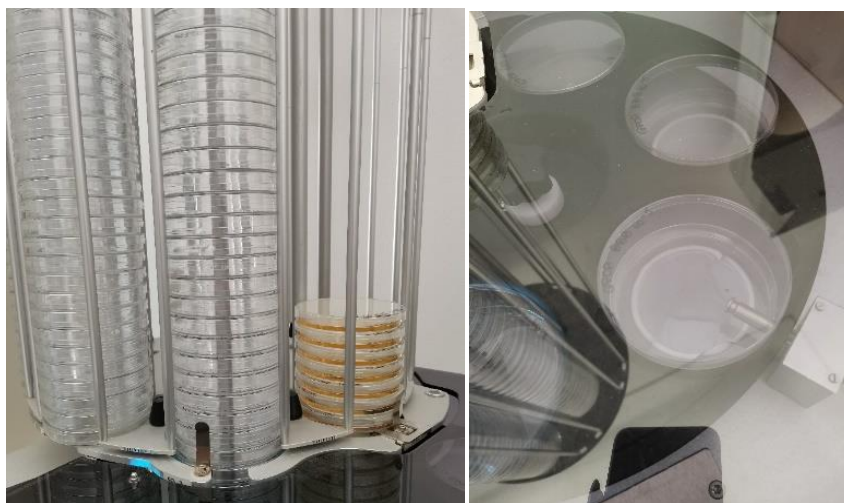


Figura 6.14 Inocularea diluțiilor în mediu GPCA
Figure 6.14 Inoculation of dilutions in GPCA medium
(foto originale/original photos)

6.3.2. Analiza cantitativă a coloniilor levuriene

După 4 zile s-a calculat numărul de unități formatoare de colonii (UFC) prin metoda cuantificării. Metoda presupune numărarea propriu-zisă a coloniilor dezvoltate pe placa Petri.

Pentru numărarea ușoară și precisă a coloniilor s-a utilizat placa de numărare Wolfhügel cu ajutorul căreia numărul coloniilor s-a realizat semi-automat prin atingerea plăcii cu markerul pe zona fiecărei colonii. (figura 6.15)

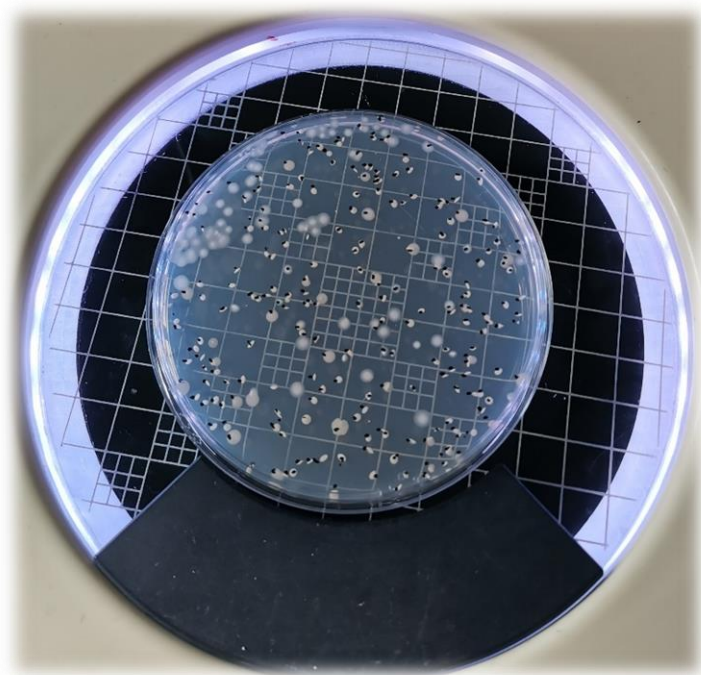


Figura 6.15 Placa de numărat colonii Wolfhügel

Figure 6.15 Wolfhügel Colony Counting Board

(foto originală/original photo)

Determinarea UFC se realizează în funcție de numărul diluției după următoarea metodă de calcul:

De exemplu pentru diluția $1/1000$ (10^{-3}) s-au găsit 50 colonii. Astfel, putem spune că într-un ml din diluția $1/1000$ s-au găsit $50 \times 1000 = 50000$ germeni/ml. Acest rezultat se exprimă în UFC.

Rezultatele calculate au fost prezentate ca media repetițiilor pentru fiecare diluție în parte.

6.3.3. Analiza taxonomică și morfologică a sușelor levuriene

6.3.3.1. Caracterizarea morfologică a tulpinilor de levuri selecționate

Coloniile din plăcile Petri au fost analizate din punct de vedere macromorfologic izolând astfel coloniile distincte de pe fiecare placă Petri.

Pentru analiza morfologică a coloniilor s-au realizat culturi pure levuriene prin metoda epuizării încărcăturii ansei. (figura 6.16).

Coloniile distincte au fost transferate în plăci Petri pe mediu nutritiv GPCA (Glucose Peptone Chloramphenicol Agar) și termostatate la temperatura de 28°C.

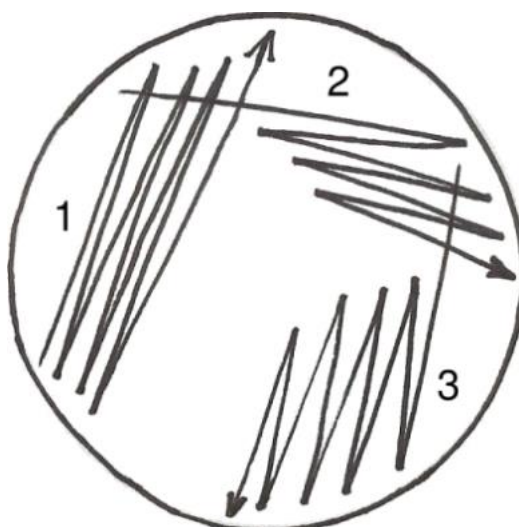


Figura 6.16 Tehnica însămânțării prin epuizarea încărcăturii ansei

Figure 6.16 Technique of seeding by depleting the load of the hook

[\(https://eurekabrewing.wordpress.com/\)](https://eurekabrewing.wordpress.com/)

După 4 zile fiecare colonie izolată a fost analizată vizual urmărind forma, culoarea, profilul și suprafața coloniilor.

De asemenea sușele izolate au fost analizate la microscop determinând forma celulelor levuriene.



Figura 6.17 Analiza microscopică a suşelor izolate
Figure 6.17 Microscopic analysis of isolated strains
 (foto originală/original photo)

6.3.3.2. Identificarea taxonomică a tulpinilor de levuri selecţionate

Caracterizarea taxonomică a levurilor implică identificarea acestora pe familii şi specii. Identificarea reprezintă procesul de înregistrare a caracteristicilor organismelor cu scopul de a fi încadrate într-un plan taxonomic global.

Celulele levuriene prezintă o categorie taxonomică complexă şi heterogenă cu microorganisme eucariote ce se înmulţesc prin înmugurire, ca reproducere generală şi ca particularitate prin spori pe cale asexuată şi sexuată.

Dintre metodele diverse utilizate în caracterizarea taxonomică a levurilor, cea mai precisă rămâne identificarea genetică prin metoda PCR.

Reacţia de polimerizare în lanţ prezintă o tehnologie in vitro ce copiază capacitatea de replicare a ADN-ului şi astfel generează multiple copii a unei secvenţe de nucleotide dintr-o genă (ARN sau ADN). Cu fiecare ciclu de amplificare creşte la nivel exponenţial şi numărul de copii, întrucât orice secvenţă de nucleotide nesintetizată reprezintă o posibilă matrice pentru obţinerea unei noi copii. Procesul de copiere se realizează sub acţiunea unei enzime ADN dependente ce are rol de legare a nucleotidelor complementare cu ADN-ul catenar mamă. În vederea obţinerii catenei noi pe lângă ADN-ul mamă se folosesc două

secvențe polinucleotidice monocatenare, complementare cu ADN-ul mamă, ce poartă denumirea de primeri.

Produsul PCR obținut prin copierea ADN/ARN original poartă denumirea de amplicon.

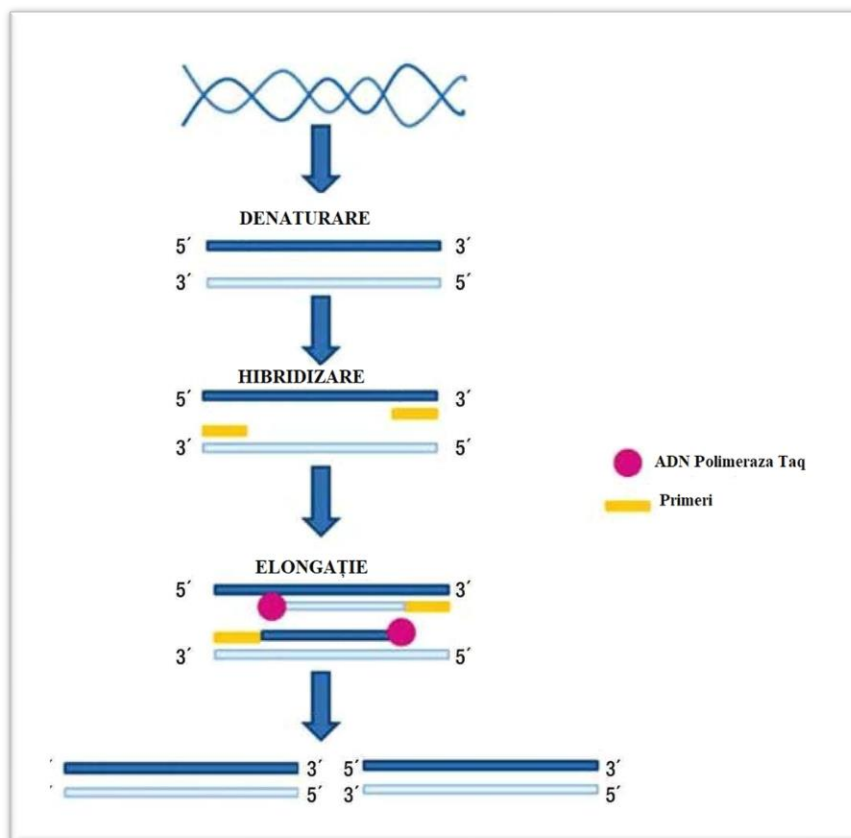


Figura 6.18 Etapele metodei PCR

Figure 6.18 The PCR method steps

[\(https://eurekabrewing.wordpress.com/\)](https://eurekabrewing.wordpress.com/)

Metoda PCR prezintă ca avantaj o exactitate precisă în detectarea concentrațiilor scăzute ale secvenței (Jost P., 1975). Un alt avantaj al acestei metode o reprezintă capacitatea de obținere a unei cantități superioare de material genetic dintr-o singură secvență nucleotidică, astfel aceste molecule pot fi analizate ulterior fără a mai fi necesar realizarea unei clonări în prealabil.

Analizele de secvențiere a regiunii amplificate s-au realizat în laboratorul *BMR Genomics* din Padova, Italia din culturi pure ale sușelor izolate din plantațiile viticole.

În cadrul metodei PCR s-au utilizat ca primeri:

○ ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG -3' (White T. J. *et al.*, 1990, Montrocher *et al.* 1998)

○ ITS2: 5' - GCTGCGTTCTTCATCGATGC -3' (White T. J. *et al.*, 1990, Montrocher *et al.* 1998)



Figura 6.19 ADN polimerază Taq
Figure 6.19 Taq DNA polymerase
[\(https://www.thermofisher.com/\)](https://www.thermofisher.com/)

În vederea obținerii amestecului de reacție (tabelul 6.7) s-au utilizat următoarele componente:

- ADN extras din probă în etapa de prelucrare
- enzima ADN polimerazaTaq – enzimă izolată din *Theromophilus aquaticus* ce are rol în sinteza lanțului nucleotidic (figura 6.19)
- primerii (ITS1 și ITS2) – reprezintă secvențe scurte cu lungimea de 20-20 nucleotide
- deoxinucleotide specifice (dUTP, dATP, dGTP, dCTP) ce au rol în sinteza catenei noi ADN atașându-se la capătul primerilor
- amperaza – o enzimă ce amplifică selectiv ADN-ul sau ARN-ul țintă

Tabel 6.7/Table 6.7

Componentele amestecului de reacție
The reaction mixture components

Componente	Cantitate (μl)
Soluție tampon	2,5
MgSO ₄	1
Primer primar (ITS1/ITS2)	1
Reverse primer	1
ADN polimerazaTaq	0,2
Apă	13,8
Secvența ADN	5

Probele levuriene au fost pregătite în vederea extragerii ADN-ului (deproteinizarea cu solvenți organici, precipitarea acizilor nucleici, îndepărtarea moleculelor de ARN din extract și dizolvarea sedimentului de ADN). Ulterior ADN-ul a fost supus operației de amplificare.

Operația de amplificare s-a realizat în analizatorul Thermal cycler (figura 6.20).



Figura 6.20 Amplificator (thermal cycler)

Figure 6.20 Amplifier (thermal cycler)

(foto originală/original photo)

Amplificarea s-a desfășurat astfel:

- 1 ciclu = denaturare: 94°C timp de 1 min
- 25 de cicluri = 94°C timp de 30 sec + 55°C timp de 30 sec. + 68°C timp de 45 sec.
- 1 ciclu = 68°C timp de 10 min.

Identificarea speciilor s-a realizat prin compararea secvenței nucleotidice cu informațiile din baza de date genetice NCBI. Rezultatele de similaritate ale cercetării au fost obținute prin software-ul Blast 2.14.0+ <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (Zhang Z., *et al.*, 2000; Morgulis A. *et al.*, 2008)

7. REZULTATE PRIVIND CREȘTEREA ȘI DEZVOLTAREA VIȚEI DE VIE

7. RESULTS ON VINE GROWTH AND DEVELOPMENT

7.1. Rezultate privind observațiile fenologice

Creșterea și dezvoltarea viței de vie este influențată de o serie de factori de ordin genetic, areal, condițiile climatice ale anului și nu în ultimul rând capacitatea plantelor de a se adapta acestor condiții.

Fazele fenologice au fost observate în cei doi ani de cercetare respectiv anii agricoli 2020-2021 și 2021-2022. Cei doi ani de experimentare au înregistrat condiții climatice diferite. Analizând la modul general perioada de referință (2020-2022), s-au evidențiat condiții de ierni blânde ce nu au provocat înghețuri viilor.

Primul an de experimentare a fost unul favorabil din punct de vedere al regimului pluviometric în schimb al doilea an a fost un an secetos. Al doilea an a înregistrat abateri negative în lunile mai-august, (-28,5, -50,5, -57,2 și -4,6), cantitatea de apă din sol scăzând drastic, apărând astfel condițiile de secetă ce au un impact negativ în fazele de dezvoltare a viței de vie.

Suma temperaturilor globale a atins pragul de 3923°C în anul 2021 iar temperaturile utile au fost scăzute în anul 2022 cu valori de 1249°C, întârziind momentul de maturare a strugurilor și creșterea concentrației în zaharuri. Temperaturile medii lunare în perioada de vegetație au atins 19,5°C în anul 2021 respectiv 16,5°C în 2022.

În ceea ce privește regimul pluviometric, suma anuală în condițiile Fermei Didactice „Vasile Adamachi” Iași este de 517,8 mm iar suma lunară pentru anul agricol 2020-2021 a atins pragul de 691,8 mm, cu 174 mm mai mult regăsindu-se abateri între 28,8 mm în luna octombrie și 98mm în august. Anul agricol 2021-2022 a înregistrat un nivel inferior de precipitații excepție făcând luna aprilie când precipitațiile au atins o valoare de 80mm înregistrându-se o abatere pozitivă de 40,3 față de media multianuală.

În urma acestor variații climatice soiurile luate în studiu s-au comportat diferit, declanșarea fenofazelor și dinamica dezvoltării viței de vie realizându-se eșalonat în funcție de soi și anul de experimentare.

Caracteristicile fenologice analizate completează însușirile cunoscute ale soiurilor din privința cultivării acestora în centrul viticol Copou-Iași (tabel 7.2).

Tabel 7.1/Table 7.1

Durata fenofazelor în cei doi ani de studiu
The phenophases therm during the two years of study

Soiul	Anul	Dezmugurit – Lăstar 5-7 cm (zile)	Lăstar 5-7 cm – Înflorit (zile)	Înflorit - Pârgă (zile)	Pârgă - Maturitate deplină (zile)	Total perioadă de vegetație
Busuioacă de Bohotin	2021	30	27	57	38	170
	2022	40	35	60	35	183
Fetească Albă	2021	31	25	60	39	173
	2022	35	30	58	40	180
Fetească Neagră	2021	30	25	60	37	171
	2022	40	31	57	35	185
Fetească Neagră Colecție	2021	28	25	58	38	169
	2022	41	35	60	40	185

Un mare impact asupra dinamicii de dezvoltare a organelor vegetative îl constituie declanșarea fenofazei de înflorire, când peste 50% din plante au deja corola și capișoanele desprinse observându-se cele 5 stamene libere. Acest moment fenologic influențează în mare măsură ritmul de creștere și dezvoltarea organelor vegetative ulterioare.

Din punct de vedere al perioadei de vegetație, în cazul tuturor celor 4 soiuri acestea au însumat mai multe zile de vegetație în anul 2022 comparativ cu anul 2021. Toate cele 4 soiuri analizate au prezentat o înflorire tardivă în al doilea an de studiu, evoluția acestora încadrându-se într-o medie de 3 zile.

Acest lucru este datorat condițiilor climatice inferioare a lunilor aprilie, mai și iunie a anului 2022 comparativ cu anul precedent.

Analizând cele 4 soiuri luate în experiență pe fiecare an de studiu, acestea nu au înregistrat diferențe însemnate în ceea ce privește numărul total de zile de vegetație media fiind de 171 zile în anul 2021 respectiv 183 zile în 2022.

Tabel 7.2/Table 7.2

Momentele principalelor fenofaze ale soiurilor luate în studiu
The main phenophases moments of the studied varieties

Fenofaze analizate	Soiuri				
	Anul	Busuioacă de Bohotin	Fetească Albă	Fetească Neagră	Fetească Neagră Colecție
Dezmugurit	2021	28.IV-04.V	23-29.IV	25-30.IV	23-30.IV
	2022	04 - 10.V	01-10.V	04-10.V	05-10.V
Lăstar 5-7 cm	2021	23.V-04.VI	25.V-06.VI	24.V-04.VI	24.V-05.VI
	2022	10-18.VI	9-15.VI	12-20.VI	12-20.V
Înflorit deplin	2021	20 - 24.VI	18-22.VI	23-26.VI	24-28.VI
	2022	05-09. VII	01-06.VII	08-12.VII	08-11.VII
Pârgă	2021	15-29.VIII	10-25.VIII	12-26.VIII	06-19.VIII
	2022	20.VIII-02.IX	15-31.XIII	21.XIII-01.IX	18-31.XIII
Maturitate deplină	2021	24-27.IX	23-26.IX	20-25.IX	22-27.IX
	2022	01-09.X	29.IX-05.X	04-10.X	04-10.X

În ceea ce privește soiurile luate în studiu, atât în primul an de studiu cât și în al doilea an Feteasca Albă a ajuns la înflorire deplină înaintea celorlalte 3 soiuri înregistrând un avans de aproximativ 5 zile.

Pe parcursul celor doi ani, soiurile luate în experiență au prezentat un decalaj de aproximativ 10 zile între pragul de maturitate deplină din anul 2021 și cel din 2022. Aceste decalaj rămâne aproximativ constant în valoare de la fenofaza de dezmugurit a anului 2021 respectiv 2022 și până la perioadele de pârgă și maturitate deplină a celor doi ani. Diferența este justificată prin condițiile climatice ale anului 2022, în care episoadele de secetă din lunile iunie-august și temperaturile scăzute din aprilie-mai și-au lăsat amprenta asupra dinamicii dezvoltării viței de vie.

În ceea ce privește momentul recoltării, cele 4 soiuri analizate au ajuns aproximativ odată la maturitate deplină, atât în primul an cât și în al doilea an de studiu.

Analizând dinamica evoluției fenofazelor în anul 2022, putem conchide că toate cele 4 soiuri de struguri din cadrul experimentului s-au adaptat cu ușurință condițiilor climatice dificile ale anului agricol marcat de secetă și temperaturi scăzute la debutul în vegetație.

7.2. Rezultate privind măsurătorile biometrice

În vederea evidențierii capacității de fructificare în cadrul fiecărui soi s-au efectuat analize determinând numărul de lăstari/butuc, numărul de lăstari fertili/butuc, numărul de lăstari sterili/butuc, numărul de inflorescențe/butuc, valoarea coeficienților de fertilitate absolut respectiv relativ precum și indicii de productivitate absolut și relativ. În aceeași direcție măsurătorile au urmărit analiza determinării creșterii lăstarilor, analiză realizată în a doua decadă a lunii august a fiecărui an experimental.

Rezultate privind fertilitatea și productivitatea

În ceea ce privește nivelul productivității, caracteristică ce este dependentă de mărimea strugurilor, a rezultat că soiul Fetească albă în condițiile anilor 2021-2022 a prezentat cel mai ridicat indice de productivitate urmat îndeaproape de soiul Busuioacă de Bohotin. Pragul minim de productivitate l-a atins Feteasca neagră colecție, având o medie a productivității relative de numai 76,5 fiind caracterizat printr-un număr mai mic de inflorescențe pe lăstar. Diferențele semnificative dintre productivitatea soiului din colecție și cel din plantația tânără sunt justificate atât prin condițiile pedoclimatice specifice parcelelor cât și de perioada ontogenetică a viței de vie.

Analizând coeficienții de fertilitate și indicii de productivitate în anul 2021 respectiv 2022 putem observa că regimul climatic secetos al anului 2022 nu a influențat capacitatea de productivitate și fertilitate a soiurilor luate în studiu, diferențele fiind nesemnificative.

Tabel 7.3/Table 7.3

Fertilitatea și productivitatea soiurilor de struguri luate în studiu (2021-2022)
Fertility and productivity of the grape varieties studied (2021-2022)

Elemente analizate	Anul	Soiul			
		Busuioacă de Bohotin	Fetească Albă	Fetească Neagră	Fetească Neagră Colecție
Lăstari fertili (%)	2021	80	78	60	45
	2022	75	75	55	40
<i>Media 2021-2022</i>		77,5	76,5	57,5	42,5
c.f.a.*	2021	1,4	1,9	1,5	0,9
	2022	1,3	1,7	1,3	0,8
<i>Media 2021-2022</i>		1,35	1,8	1,4	0,85
c.f.r.*	2021	1,3	1,5	1,3	0,6
	2022	1,2	1,6	1,1	0,6
<i>Media 2021-2022</i>		1,25	1,55	1,2	0,6
i.p.a.**	2021	205,8	250,8	225	121,5
	2022	197,6	219,3	188,5	96
<i>Media 2021-2022</i>		201,7	235,05	206,7	108,75
i.p.r.**	2021	191,1	198	195	81
	2022	182,4	206,4	159,5	72
<i>Media 2021-2022</i>		186,7	202,2	177,2	76,5
Greutatea medie a unui strugure (g)	2021	147	132	150	135
	2022	152	129	145	120
<i>Media 2021-2022</i>		149,5	130,5	147,5	127,5

*c.f.a – coeficientul de fertilitate absolut, c.f.r. – coeficientul de fertilitate relativ

****i.p.a.** – indicele de productivitate absolut, **i.p.r.** – indicele de productivitate relativ

Procentul lăstarilor fertili la soiurile luate în cercetare s-a menținut în același interval cu excepția soiului din colecție Fetească Neagră Colecție, care a prezentat o valoare procentuală scăzută (42,5%) comparativ cu celelalte 3 soiuri (aprox. 75,5%), atât în primul an cât și în al doilea an de studiu.

Rezultate privind creșterea lăstarilor

Lăstarii reprezintă creșteri vegetative anuale de care se inserează frunzele. Raportat la dinamica dezvoltării vegetative, această caracteristică a viței de vie încadrează soiurile pe vigori de creștere. De asemenea, în viteza de creștere și dinamica dezvoltării intervin și condițiile pedoclimatice ale anului agricol, așezarea parcelei, etc., ce pot avea efect pozitiv sau negativ după caz.

Creșterea lăstarilor începe imediat după dezmugurire în ritm progresiv (1-1.5 cm/zi timp de 2-3 săptămâni), iar în a doua decadă a lunii mai începe creșterea în ritm intensiv datorită frunzelor tinere ce au atins un procent de 30% din suprafața lor totală și exportă glucide către vârful lăstarului. Această perioadă durează aproximativ 30 zile și ritmul de creștere se intensifică la 5-6 cm/zi. Până în momentul înfloririi lăstarii ajung la aproximativ 60% din lungimea totală.

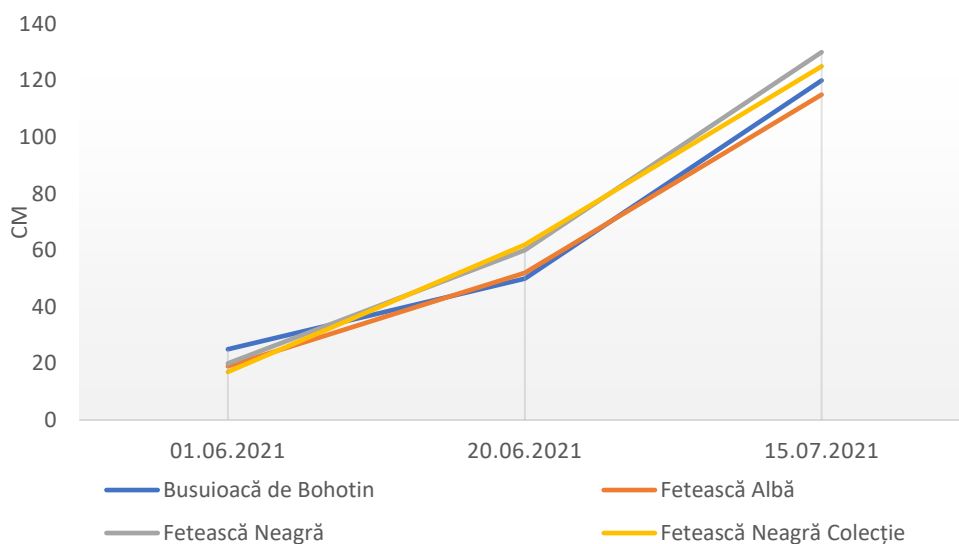


Figura 7.1 Dinamica creșterii lăstarilor în anul 2021
Figure 7.1 The dynamics of shoot growth in 2021

În anul experimental 2021 cele 4 soiuri au prezentat nivele apropiate de creștere a lăstarilor în cadrul primei măsurători (01.06.2021). Analizând dinamica de creștere a celor 4 soiuri observăm că în perioada 01.06.2021-20.06.2021 Fetească Neagră și Fetească Neagră Colecție au înregistrat creșteri mai intensive comparativ cu soiurile Busuioacă de Bohotin și Fetească Albă.

Între a doua și a treia măsurătoare dinamica dezvoltării lăstarilor în cazul celor 4 soiuri luate în studiu s-a menținut constantă prezentând o pantă ascendentă până la finalul înfloritului.

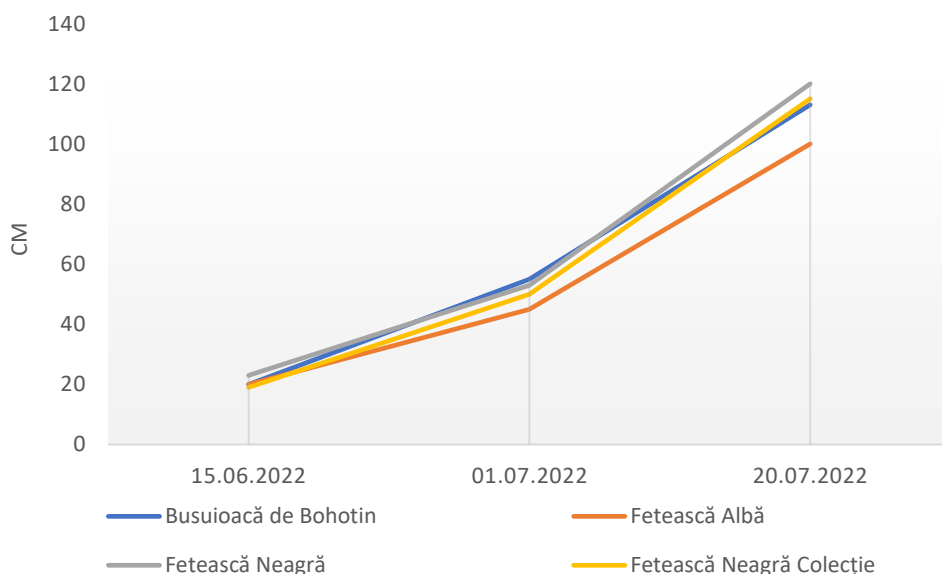


Figura 7.2 Dinamica creșterii lăstarilor în anul 2022

Figure 7.2 The dynamics of shoot growth in 2022

În al doilea an de studiu dinamica dezvoltării lăstarilor a păstrat valori apropiate în cazul soiurilor Busuioacă de Bohotin, Fetească Neagră și Fetească Neagră Colecție, excepție făcând soiul Fetească Albă care a înregistrat un nivel de creștere inferioră comparativ cu celelalte soiuri, atât în perioada 15.06.2022-01.07.2022 cât și între 01.07 și 20.07.2022.

În cazul soiurilor luate în experimentare cele mai mari creșteri ale lăstarilor indiferent de an s-au regăsit la soiul Fetească neagră cu o medie de 104cm urmat de Fetească Neagră Colecție ce a însumat o medie de 102 cm.

Atât în primul an de studiu cât și în al doilea an, în perioada celor trei măsurători rata de creștere s-a menținut constantă la toate cele 4 soiuri din experiență.

8. REZULTATE PRIVIND ANALIZA CANTITATIVĂ A SUȘELOR LEVURIENE

8. YEASTS QUANTITATIVE ANALYSIS RESULTS

Atât pe pielea bachelor cât și pe celălalte organe vegetative ale viței de vie și în solul plantațiilor se întâlnesc diverse microroganisme (fungi, bacterii, levuri), încărcătura acestora fiind influențată de fenofaza de dezvoltare a plantei, condițiile pedoclimatice ale arealului precum și de diversele lucrări agrotehnice și fitosanitare aplicate în perioada de vegetație.

Biodiversitatea levurilor prezintă o importanță majoră în natură jucând rol de balanță între fungi și bacterii. În sol îndeosebi, levurile ajută la creșterea plantelor și prezintă rol semnificativ în formarea agregatelor și menținerea structurii solului. Celulele levuriene reprezintă sursă nutritivă pentru alte microorganisme contribuind astfel în derularea proceselor ecologice esențiale, ca de exemplu mineralizarea materialului organic și dispersarea compușilor rezultați, respectiv carbonul și energie în straturile solului (Botha A., 2011).

Microbiota solului prezintă fluctuații direct proporționale cu schimbările climatice și dinamica fenofazelor viței de vie.

Conform Lopez-Pineiro A, *et al.*, 2013, din totalitatea microroganismelor existente în sol, levurile prezintă dependență evidentă față de fazele fenologice ale viței de vie și implicit față de dezvoltarea zaharurilor fermentescibile din struguri până la momentul de recoltare.

Rezultatele privind încărcătura levurică atât a solului cât și a plantelor în diferite faze de vegetație au fost exprimate prin numărul de UFC raportate la 1g de sol sau 1ml soluție.

8.1. Rezultate privind încărcătura levuriană din sol

Solul reprezintă mediu eterogen asupra căruia factorii fizici, chimici și biologici acționează în scopul de a crea habitatul optim pentru dezvoltarea și proliferarea microroganismelor (Dumbrell A.J. *et al.*, 2010; Campos A.C. *et al.*, 2012)

Totodată, în cazul levurilor, solul nu este un mediu propice pentru înmulțirea și creșterea activă a acestora, prezentând doar un rol de „depozitare”, locul unde celulele levurice pot fi păstrate în stare viabilă. Pe parcursul perioadei de vegetație solul plantațiilor viticole lucrează ca o sursă de spori ce ajută la

îmbogățirea microbiotei strugurilor și a organelor vegetative a viței de vie. (Bayraktar V.N., 2014).

Rezultate privind încărcătura levuriană în fenofaza de lăstar de 5-7 cm

Conform protocolului experimental, în data de 28.05.2021 s-a efectuat tratamentul cu fungicidul comercial Dithane® M-45, s.a. 80% mancozeb, cu spectrul împotriva agenților patogeni *Plasmopara viticola* și *Botrytis cinerea* ce provoacă Mana respectiv Putregaiul cenușiu al viței de vie.

În scopul de a determina influența tratamentelor aplicate în vegetație asupra dezvoltării și implicit distribuției levurilor în plantațiile viticole în condițiile centrului viticol Copou Iași, s-au prelevat probe de sol cu 3 zile înainte de aplicarea tratamentului și după 7 zile de la tratament.

Conform datelor din tabelul nr. 8.1, tratamentul fitosanitar aplicat în fenofaza de lăstar 5-7 cm în primul an de experiență a avut un impact negativ asupra dezvoltării levurilor, încărcătura levuriană din sol în cazul celor trei adâncimi de prelevare fiind inferioară comparativ cu cea anterioară tratamentului la toate cele 4 soiuri luate în experiență.

Tabel 8.1/Table 8.1

Influența factorilor experimentali asupra încărcăturii levuriene din sol, în anul 2021
The influence of experimental factors on the yeast load in the soil, in the year 2021

Soiul	Adâncimea de prelevare	Fenofaza de lăstar 5-7 cm (2021)	
		Cu 3 zile înainte de tratament UFC/g	După 7 zile de la tratament UFC/g
Fetească Neagră Colecție	A*	$0,15 \pm 26 \times 10^6$	$0,10 \pm 24 \times 10^6$
	B**	$0,13 \pm 15 \times 10^6$	$0,13 \pm 12 \times 10^6$
	C***	$0,1 \pm 12 \times 10^6$	$0,09 \pm 9 \times 10^6$
Fetească Neagră	A*	$0,1 \pm 18 \times 10^6$	$0,1 \pm 15 \times 10^6$
	B**	$0,09 \pm 10 \times 10^6$	$0,08 \pm 9 \times 10^6$
	C***	$0,07 \pm 8 \times 10^6$	$0,07 \pm 6 \times 10^6$
Fetească Albă	A*	$0,12 \pm 21 \times 10^6$	$0,1 \pm 18 \times 10^6$
	B**	$0,09 \pm 12 \times 10^6$	$0,07 \pm 10 \times 10^6$
	C***	$0,08 \pm 8 \times 10^6$	$0,06 \pm 7 \times 10^6$
Busuioacă de Bohotin	A*	$0,13 \pm 21 \times 10^6$	$0,10 \pm 18 \times 10^6$
	B**	$0,09 \pm 13 \times 10^6$	$0,08 \pm 10 \times 10^6$
	C***	$0,09 \pm 9 \times 10^6$	$0,07 \pm 6 \times 10^6$

*adâncime de prelevare 5-10 cm; **adâncime de prelevare 10-15 cm;

***adâncime de prelevare 15-20 cm.

Comparând cele 4 soiuri luate în studiu, încărcătura levuriană a fost superioară atât înainte de tratament cât și după 7 zile de la tratament în cazul soiului Fetească Neagră Colecție, care a înregistrat un prag maxim de 26×10^6 UFC/g sol înainte de tratament, respectiv 24×10^6 UFC/g sol după tratament.

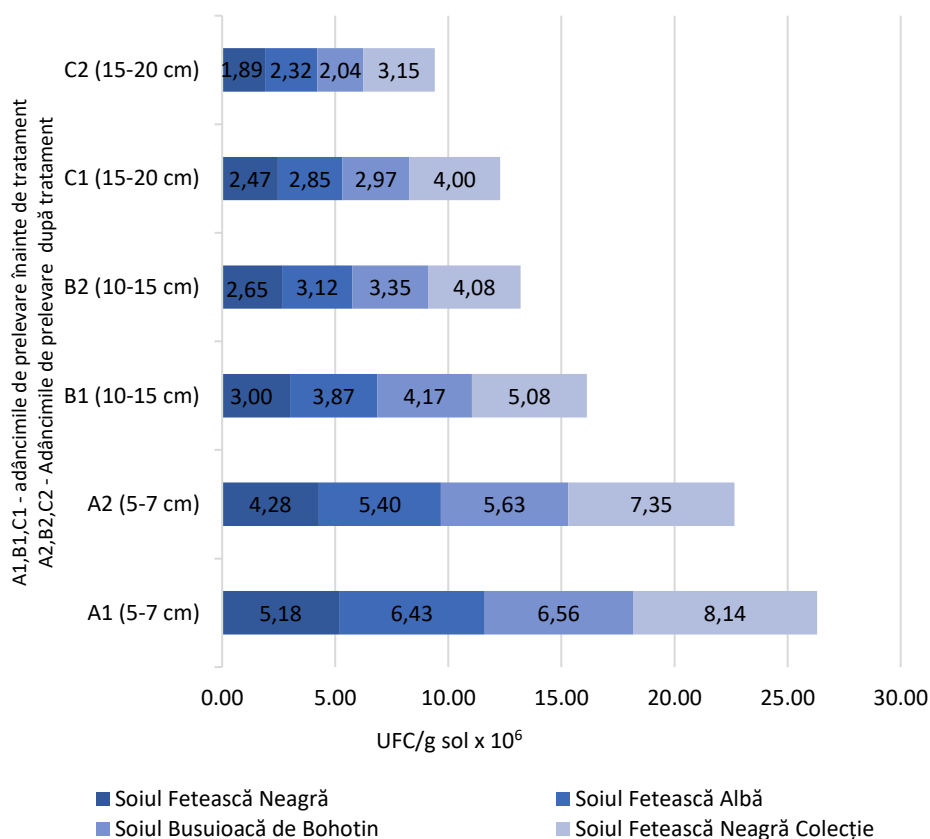


Figura 8.1 Influența factorilor experimentali asupra încărcăturii levuriene din sol, în anul 2021

Figure 8.1 The influence of experimental factors on the yeast load in the soil, in the year 2021

Conform figurii 8.1 se poate observa că nr. UFC/g sol scade pe măsură ce crește adâncimea de prelevare a probelor. Aceste rezultate atestă studiile din literatura de specialitate potrivit cărora microbiota solului este răspândită îndeosebi în adâncimile superficiale ale solului, atât din punct de vedere cantitativ cât și în ceea ce privește diversitatea microorganismelor.

De asemenea, comparând încărcătura levuriană dinaintea tratamentului cu rezultatele după 7 zile de la aplicarea fungicidului observăm o scădere a nr de UFC de aproximativ 1×10^6 UFC/g sol în cazul celor 3 adâncimi luate în studiu.

Putem conclide astfel că aplicarea tratamentului fitosanitar a avut impact asupra viabilității celulelor levuriene atât la nivelul superficial al solului cât și în straturile din profunzime.

Comparativ cu anul 2021, în anul 2022 se observă o ușoară scădere a numărului UFC în cazul tuturor celor 4 soiuri luate în studiu.

În tabelul nr. 8.2. este prezentată diferența dintre încărcătura microbiană a probelor de sol prelevate cu 3 zile înainte de tratament și cea a probelor prelevate după 7 zile de la tratament în al doilea an de studiu.

Se observă că nr. UFC/g sol în ambele prelevări este invers proporțional cu adâncimea de prelevare, pragul maxim atingându-se cazul soiului Fetească Neagră Colecție, care a înregistrat un nr. de cca. 24×10^6 CFU/g sol.

Tabel 8.2/Table 8.2

Influența factorilor experimentali asupra încărcăturii levuriene din sol, în anul 2022
The influence of experimental factors on the yeast load in the soil, in the year 2022

Soiul	Adâncimea de prelevare	Fenofaza de lăstar 5-7 cm (2022)	
		Cu 3 zile înainte de tratament	După 7 zile de la tratament
		UFC/g	UFC/g
Fetească Neagră Colecție	A*	$0,14 \pm 24 \times 10^6$	$0,10 \pm 24 \times 10^6$
	B**	$0,12 \pm 16 \times 10^6$	$0,13 \pm 12 \times 10^6$
	C***	$0,1 \pm 10 \times 10^6$	$0,09 \pm 9 \times 10^6$
Fetească Neagră	A*	$0,1 \pm 15 \times 10^6$	$0,1 \pm 15 \times 10^6$
	B**	$0,08 \pm 9 \times 10^6$	$0,07 \pm 6 \times 10^6$
	C***	$0,07 \pm 9 \times 10^6$	$0,07 \pm 6 \times 10^6$
Fetească Albă	A*	$0,11 \pm 19 \times 10^6$	$0,1 \pm 17 \times 10^6$
	B**	$0,08 \pm 10 \times 10^6$	$0,07 \pm 9 \times 10^6$
	C***	$0,06 \pm 8 \times 10^6$	$0,06 \pm 8 \times 10^6$
Busuioacă de Bohotin	A*	$0,12 \pm 20 \times 10^6$	$0,10 \pm 18 \times 10^6$
	B**	$0,08 \pm 12 \times 10^6$	$0,08 \pm 10 \times 10^6$
	C***	$0,05 \pm 8,5 \times 10^6$	$0,05 \pm 6 \times 10^6$

*adâncime de prelevare 5-10 cm; **adâncime de prelevare 10-15 cm;

***adâncime de prelevare 15-20 cm.

Încărcătura microbiană a prezentat o pantă descendentă constantă atât în cazul adâncimii de prelevare de 5-10 cm cât și de 10-5 cm și 15-20 cm între probele prelevate înainte de tratament și cele prelevate după efectuarea tratamentului.

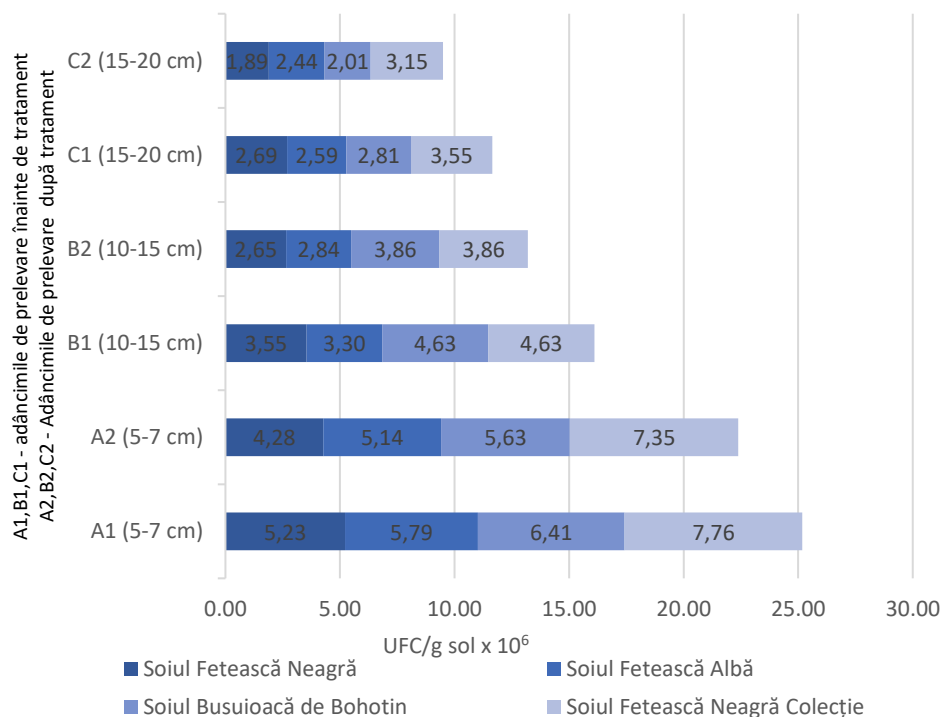


Figura 8.2 Influența factorilor experimentali asupra încărcăturii levuriene din sol, în anul 2022

Figure 8.2 The influence of experimental factors on the yeast load in the soil, in the year 2022

În împărțirea pe verticală a levurilor în sol conform figurii nr. 8.4. se poate constata că numărul de microorganisme prezintă pantă descendentă invers proporțională cu adâncimea de prelevare, astfel se poate deduce că scăderea constantă a activității microbiotei din straturile inferioare este caracterizată prin lipsa oxigenului, scăderea cantității de substanțe nutritive și bineînțeles alcalinizarea treptată a solului.

În cei doi ani de studiu compoziția și numărul microbiotei levuriene în fenofaza de lăstar 5-7 cm a înregistrat variații cantitative între factorii experimentali luați în studiu: soiurile, adâncimile de prelevare respectiv faza de prelevare (înainte și după tratament).

Rezultate privind încărcătura levuriană din sol la finalul înfloriturii și la maturitatea deplină a bachelor

Tabel 8.3/Table 8.3

Influența factorilor de experiență asupra dinamicii încărcăturii levuriene în anii de studiu
The influence of experience factors on the dynamics of yeast load during the study years

Fenofaza de prelevare	Factori de influență	Finalul înfloriturii			Maturitate deplină		
		2021	2022	Media	2021	2022	Media
		UFC/g x 10 ⁶	UFC/g x 10 ⁶	UFC/g x 10 ⁶	UFC/g x 10 ⁶	UFC/g x 10 ⁶	UFC/g x 10 ⁶
Fetească Neagră Colecție	A (5-10cm)	0,19 ± 15	0,2 ± 12	0,2 ± 13,5	0,2 ± 16	0,2 ± 17	0,2 ± 16,5
	B (10-15 cm)	0,15 ± 10	0,14 ± 11	0,15 ± 10,5	0,13 ± 11	0,15 ± 10	0,13 ± 10,5
	C (15-20 cm)	0,12 ± 7	0,1 ± 8	0,11 ± 7,5	0,11 ± 8	0,1 ± 7	0,1 ± 7,5
Fetească Neagră	A (5-10cm)	0,15 ± 11	0,12 ± 10	0,14 ± 10,5	0,16 ± 15	0,13 ± 15	0,13 ± 15
	B (10-15 cm)	0,11 ± 9	0,1 ± 7	0,11 ± 8	0,1 ± 8	0,1 ± 8	0,1 ± 8
	C (15-20 cm)	0,09 ± 6	0,08 ± 6	0,09 ± 6	0,09 ± 5	0,07 ± 8	0,07 ± 7,5
Fetească Albă	A (5-10cm)	0,11 ± 12	0,12 ± 10	0,12 ± 11	0,10 ± 14	0,12 ± 15	0,1 ± 14,5
	B (10-15 cm)	0,09 ± 9	0,08 ± 9	0,09 ± 9	0,09 ± 9	0,1 ± 10	0,09 ± 9,5
	C (15-20 cm)	0,09 ± 6	0,06 ± 7	0,08 ± 6,5	0,08 ± 7	0,09 ± 8	0,08 ± 7,5
Busuioacă de Bohotin	A (5-10cm)	0,11 ± 10	0,12 ± 9	0,12 ± 9,5	0,1 ± 15	0,2 ± 14	0,1 ± 14,5
	B (10-15 cm)	0,09 ± 8	0,09 ± 7	0,09 ± 7,5	0,09 ± 8	0,1 ± 9	0,09 ± 8,5
	C (15-20 cm)	0,09 ± 6	0,08 ± 5	0,09 ± 6,5	0,08 ± 6	0,09 ± 5	0,08 ± 7,5

În tabelul nr. 8.3. este prezentată cantitativ încărcătura levuriană din sol la finalul înfloritului și la maturitatea deplină în cei doi ani de studiu.

Comparând probele din cele două fenofaze de prelevare se poate observa o creștere constantă a numărului coloniilor din stratul superficial al solului (adâncimea de 5-10 cm) până la o valoare maximă atinsă la maturitatea deplină a strugurilor. Acest trend s-a evidențiat atât în primul an de studiu cât și în al doilea an. Astfel se poate presupune că odată cu creșterea microbiotei de pe plantă pe parcursul fenofazelor de dezvoltare până la maturitatea deplină a bachelor, numărul de microorganisme din stratul superficial al solului prezintă și el o pantă ascendentă.

În ceea ce privește încărcătura levuriană a straturilor inferioare a solului s-a evidențiat o constanță a numărului de unități formatoare de colonii între finalul înfloritului și maturitatea deplină a strugurilor.

În fenofaza de maturitate deplină în straturile superficiale ale solului pragul maxim UFC a fost atins de soiul Fetească Neagră Colecție, cu o medie de cca. $16,5 \times 10^6$ UFC/g sol, urmat îndeaproape de soiul Fetească Neagră cu medie de 15×10^6 UFC/g sol. Soiurile Fetească Albă și Busuioacă de Bohotin la maturitatea deplină a strugurilor au înregistrat o medie de $14,5 \times 10^6$ UFC/g sol în stratul superficial.

Diferențele semnalate între factorii experimentali ai studiului (adâncimi de prelevare, soiuri, fenofaze de prelevare) evidențiază faptul că solul reprezintă o reală sursă microbiană bogată și diversificată. Numărul levurilor într-un anume loc este influențat direct de cantitatea de carbon și substanțe nutritive necesare dezvoltării.

De asemenea, variațiile privind încărcătura microbiană între cele 4 soiuri în diferite fenofaze de dezvoltare a plantei ne indică faptul că microbiota solului este dependentă de ritmul și dinamica dezvoltării fiecărui soi de viță de vie în parte, corelată bineînțeles cu nivelul calității solului și condițiile climatice ale anului luat în studiu.

În urma rezultatelor exprimate și corelate cu factorii experimentali se constată că încărcătura levurică din solul plantațiilor viticole în condițiile Centrului Viticol Copou Iași este influențată de răspândirea pe verticală a microorganismelor, soiul viței de vie, fenofaza de dezvoltare a plantei și nu în ultimul rând de diversele tratamente aplicate în vegetație culturilor viticole.

8.2. Rezultate privind încărcătura levuriană de pe plante

Microbiota aflată pe pielea strugurilor joacă un rol esențial în procesul oenologic în vederea obținerii unor vinuri de calitate superioară. Procesul fermentativ este direct influențat de numărul și diversitatea celulelor levurice aflate în mod natural pe bace și pe alte organe vegetative ale plantațiilor viticole. Complexitatea levurilor aflate pe struguri, flori, frunze respectiv în sol reprezintă cea mai importantă influență asupra calității senzoriale și organoleptice ale vinului (Fleet G.H. *et al*, 2002). Alți factori ce influențează calitatea vinurilor sunt condițiile climatice, soiul de struguri, starea de sănătate a fructelor, aplicarea diverselor fungicide, procesul de vinificație în sine și nu în ultimul rând fermentația malolactică (Chavan U.D.*et al.*, 2009, Raspor P.*et al.*, 2006).

Calitatea și cantitatea microorganismelor existente pe pielea strugurilor sunt influențate de perioada ontogenică în care se află vița de vie, gradul de coacere, condițiile pedoclimatice ale zonei.

Pe parcursul fazelor fenologice microbiota din plantațiile viticole prezintă modificări, atât din punct de vedere al numărului de microorganisme cât și din punct de vedere al locului unde se dezvoltă. În primele stadii de vegetație, cantitatea cea mai ridicată de microorganisme se regăsește în sol, în diverse straturi până la cca. 30 cm adâncime în timp ce spre începutul înfloriturii și până la maturitatea deplină a bachelor microorganismele migrează pe organele vegetative ale plantei, loc unde proliferază în scopul dezvoltării microbiotei necesare dirijării procesului de fermentație ulterioară.

În vederea determinării cantității și diversității microbiotei levurice în condițiile Fermei Didactice „Vasile Adamachi” Iași, s-au prelevat probe de pe plantă la finalul înfloriturii și în stadiul de maturitate deplină. Atât în primul an de studiu cât și în al doilea an, probele prelevate au constatat în inflorescențe respectiv bace maturate în funcție de fenofaza de recoltare.

Ca sursă de izolare s-a utilizat apa de spălare a inflorescențelor respectiv a bachelor aflate la maturitate deplină.

În tabelul nr. 8.4. sunt prezentate valorile UFC/ml pentru cele 4 soiuri luate în studiu: Fetească Neagră Colecție, Fetească Neagră, Fetească Albă și Busuioacă de Bohotin, probe prelevate în august-septembrie 2021.

Tabel 8.4/Table 8.4

Încărcătura levuriană în cazul probelor prelevate de pe plante, în anul 2021
The yeast load of the plants samples, in the year 2021

Soiul	Fenofaza de prelevare	
	<i>Finalul înfloriturii</i>	<i>Maturitate deplină</i>
	UFC/ml	UFC/ml
Fetească Neagră Colecție	$0,09 \pm 12 \times 10^6$	$0,19 \pm 40 \times 10^6$
Fetească Neagră	$0,08 \pm 2 \times 10^6$	$0,19 \pm 15 \times 10^6$
Fetească Albă	$0,08 \pm 4 \times 10^6$	$0,2 \pm 18 \times 10^6$
Busuioacă de Bohotin	$0,07 \pm 6 \times 10^6$	$0,9 \pm 30 \times 10^6$

Comparând încărcătura microbiană a probelor prelevate în cele două fenofaze, se observă o creștere de aproximativ 4 ori a unităților formatoare de colonii, la finalul înfloriturii înregistrându-se o valoare maximă de 12×10^6 UFC/ml în timp ce în fenofaza de maturitate deplină numărul unităților formatoare de colonii atinge un prag superior de 40×10^6 UFC/ml.

Atât la finalul înfloriturii cât și la maturitatea deplină, soiul Fetească Neagră colecție a prezentat valoarea cea mai ridicată de celule levurice viabile.

Cel mai mic număr de UFC s-a regăsit în cazul soiului Fetească Neagră care a atins un prag de 2×10^6 UFC/ml la finalul înfloriturii respectiv 15×10^6 UFC/ml pe boabele strugurilor copti.

În figura 8.3. este prezentată dinamica evoluției încărcăturii levurice plecând de la finalul înfloriturii și până înainte de recoltarea strugurilor la maturitatea deplină.

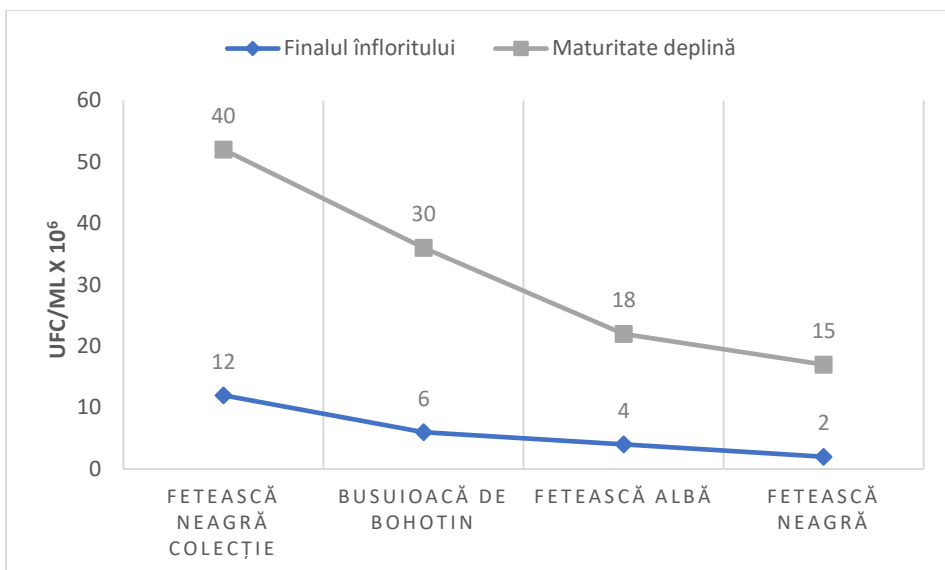


Figura 8.3 Dinamica evoluției încărcăturii levuriene a probelor de pe plante, din stadiu de inflorescență la bace mature, în anul 2021

Figure 8.3 The evolution dynamics of the yeast load of plant samples, from the inflorescence stage to mature berries, in the year 2021

Se poate observa că încărcătura levuristică prezintă o evoluție ascendentă sfârșitul înfloritului până la maturitatea deplină, evoluție constantă în cazul celor 4 soiuri luate în studiu.

Atât în cazul soiului Fetească Neagră Colecție, ce a prezentat pragul maxim privind microbiota întâlnită pe plante cât și în cazul soiului Fetească Neagră din plantația tânără dinamica dezvoltării microbiotei strugurilor s-a păstrat aproximativ constantă.

De asemenea, variațiile privind încărcătura microbiană între cele 4 soiuri în diferite fenofaze de dezvoltare a plantei ne indică faptul că microbiota plantațiilor viticole este dependentă de ritmul și dinamica dezvoltării fiecărui soi de viță de vie în parte, corelată bineînțeles cu dinamica transferării și dezvoltării levurilor din sol și condițiile climatice ale anului luat în studiu.

Aceste rezultate confirmă studiile din literatura de specialitate conform cărora cantitatea levurilor din plantațiile viticole cresc proporțional cu acumularea de zaharuri fermentescibile în bace influențând astfel pozitiv procesul dezvoltării microbiotei viticole.

Luând în calcul condițiile climatice ale anului 2021, putem conchide că temperaturile ridicate ale lunilor august-septembrie din anul 2021 au influențat dinamica dezvoltării plantelor în diferitele fenofaze analizate și implicit cantitatea

și calitatea microorganismelor din plantațiile viticole, în condițiile Fermei didactice „Vasile Adamachi” Iași.

În tabelul nr. 8.5. sunt exprimate valorile unităților formatoare de colonii (UFC/ml) ale probelor recoltate în anul 2022 de pe inflorescențe respectiv boabele de struguri aflați la maturitatea deplină.

Comparând cele 4 soiuri luate în experimentare observăm că și în anul 2022 soiul Fetească Neagră Colecție a deținut pragul maxim în ceea ce privește încărcătura levuriană atât în stadiu de final de înflorit cât și la maturitatea deplină.

Soiurile Fetească Albă și Fetească Neagră din plantația tânără au înregistrat valori maxime de 1,5 respectiv 3,5 x 10⁶ UFC/ml la finalul înfloriturii, valori ce au crescut până la maturitatea deplină la 20 x 10⁶ UFC/ml.

Tabel 8.5/Table 8.5

Încărcătura levuriană în cazul probelor prelevate de pe plante în anul 2022

The yeast load in case of the samples taken from the plants in the year 2022

Soiul	Fenofaza de prelevare	
	<i>Finalul înfloriturii</i>	<i>Maturitate deplină</i>
	UFC/ml	UFC/ml
Fetească Neagră Colecție	0,08 ± 9 x 10 ⁶	0,19 ± 41 x 10 ⁶
Fetească Neagră	0,07 ± 1,5 x 10 ⁶	0,1 ± 20 x 10 ⁶
Fetească Albă	0,07 ± 3,5 x 10 ⁶	0,18 ± 20 x 10 ⁶
Busuioacă de Bohotin	0,06 ± 6 x 10 ⁶	0,18 ± 35 x 10 ⁶

În ceea ce privește dinamica dezvoltării microbiotei între cele două fenofaze luate în studiu, în figura 8.6. putem observa creșterea constantă a numărului de celule levurice în cadrul celor patru soiuri, înregistrându-se modificări cantitative, atât în cazul soiurilor din plantația tânără, cât și în cazul soiului Fetească Neagră Colecție.

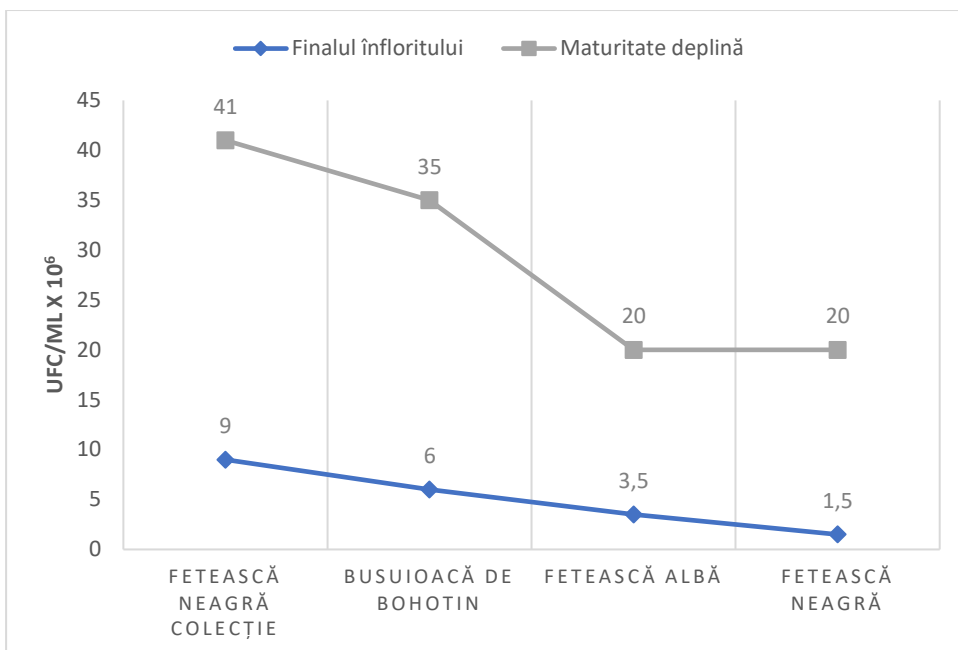


Figura 8.4 Dinamica evoluției încărcăturii levuriene a probelor de pe plante din stadiu de inflorescență la bace mature în anul 2022

Figure 8.4 The dynamics of the evolution of the yeast load of samples from plants from the inflorescence stage to mature berries in the year 2022

În urma rezultatelor anului 2022, în ceea ce privește încărcătura microbiană de pe plante în etapele de vegetație putem concluda, conform studiilor din literatura de specialitate, că ritmul și dinamica dezvoltării levurilor pe bace se realizează concomitent cu creșterea conținutului de zaharuri din fructe până la momentul optim pentru recoltare respectiv maturitatea deplină.

De asemenea analizând microbiota celor patru soiuri luate în studiu, atât în anul 2021 cât și în anul 2022 soiul Fetească Neagră Colecție a înregistrat pragurile maxime privind numărul de unități formatoare de colonii, diferențele față de celelalte trei soiuri fiind considerabile.

Conform literaturii de specialitate, solurile și implicit bacele din plantațiile tinere prezintă microbiotă săracă din punct de vedere al diversității acesteia, în timp ce vița de vie mai avansată din punct de vedere ontogenetic prezintă o paletă largă de microorganisme și un număr ridicat de celule viabile. Acest fapt poate fi datorat numărului de cicluri vegetative a viței de vie și implicit cantitatea de fructe ce au căzut an de an în contact cu solul, loc unde microorganismele se conservă în perioada de repaus a plantei.

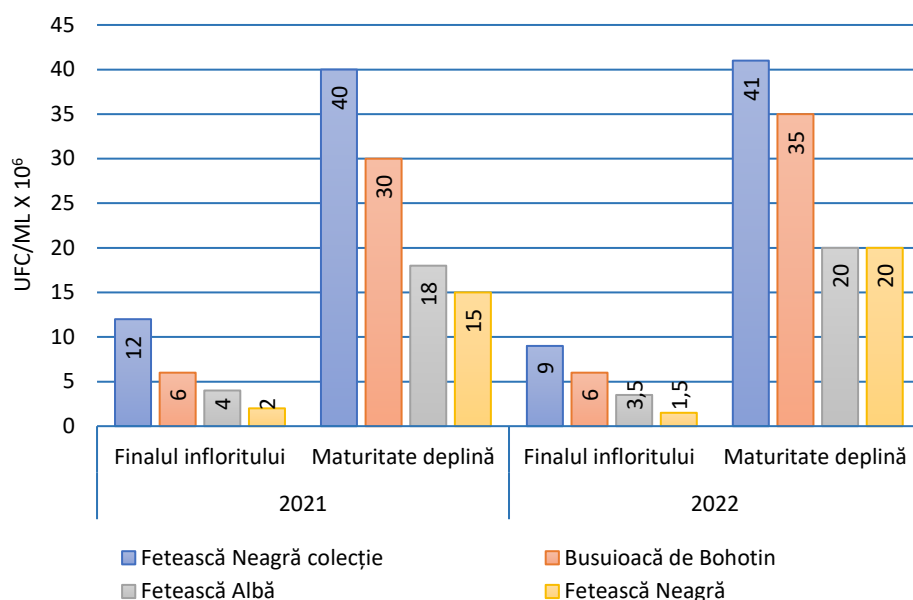


Figura 8.5 Influența factorilor experimentali asupra încărcăturii levuriene de pe plante, în cei doi ani de studiu

Figure 8.5 The influence of the experimental factors on the yeast load on the plants, during the two years of the study

Analizând dezvoltarea microbiotei de pe plante în anii luați în studiu, 2021 respectiv 2022 observăm că temperaturile ridicate din vara anului 2022 și decalarea fenofazelor cu aproximativ două săptămâni față de anul precedent, au determinat o dezvoltare mai accentuată a microbiotei de pe plante.

De asemenea se poate observa în figura 8.5. că factorii experimentali luați în studiu: soiul de struguri, fenofaza de prelevare, anul de studiu, au prezentat o influență considerabilă asupra încărcăturii microbiene din plantațiile viticole ale Fermei didactice „Vasile Adamachi” Iași.

Dacă punem în comparație influența evoluției microbiotei din sol în cei doi ani de studiu asupra încărcăturii levurice a plantelor putem concluziona că indiferent de soiul luat în studiu și de anul de prelevare, numărul de microorganisme din sol este direct proporțional cu evoluția și dinamica dezvoltării levurilor de pe organele vegetative ale plantei, respectiv inflorescențe, frunze și struguri.

În funcție de stadiul de vegetație și sursa din care se prelevează probe încărcătura microbiană poate caracteriza plantația viticolă din punct de vedere al calității și distribuției microorganismelor, atât din sol, cât și de pe plantă.

9. REZULTATE PRIVIND CARACTERIZAREA TAXONOMICĂ ȘI MORFOLOGICĂ A LEVURILOR IZOLATE

9. RESULTS REGARDING THE TAXONOMIC AND MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF THE ISOLATED YEASTS

9.1. Rezultate privind identificarea taxonomică a tulpinilor de levuri izolate

Izolarea și identificarea levurilor din microflora spontană reprezintă în prezent o preocupare continuă a oenologilor în scopul de a identifica tulpinile levuriene care reușesc să transmită în calitatea vinului în cel mai original mod caracteristicile arealului viticol și implicit să confere produsului finit o tipicitate anume. În aceste direcții se urmărește identificarea sușelor de levuri care prezintă capacitatea de a produce fermentarea controlată a zaharurilor și obținerea caracteristicilor superioare ale vinurilor.

Utilizarea în procesul oenologic a culturilor starter *Saccharomyces cerevisiae* reprezintă avantajul unei fermentări alcoolice controlate însă duce la obținerea vinurilor cu deficiențe din punct de vedere al profilului aromatic. În procesul fermentativ aromele sunt produse de enzimele extracelulare secretate de celulele levurice. Astfel, în cazul fermentației spontane procentul enzimelor extracelulare este mult mai variat intervenind în procesul fermentativ, atât levuri *Saccharomyces*, cât și non-*Saccharomyces* (Nechita A. *et al.*, 2020).

Studiul taxonomiei levuriene a fost obiectivul multor cercetări în domeniu, atât naționale, cât și internaționale (Barnett J.A., 1983, Magyar I, *et al.*, 2006; Naumov G.I. *et al.*, 2011; Beleniuc G., 2013; Abdullabekova D.A. *et al.*, 2014; Boynton P.J. , Greig D., 2014; ; Abdullabekova D.A. *et al.*, 2020; etc.) Însă în domeniul taxonomiei levurilor din plantațiile viti-vinicole ca referință rămâne cercetarea realizată de Lodder J., Kreger-Van Rij J.N. în anul 1952.

Lucrarea de cercetare prezentă a avut pe lista obiectivelor identificarea taxonomică a levurilor izolate în funcție de factorii experimentali în condițiile Centrului viticol Copou Iași.

Astfel în anii de studiu 2021-2022 s-au urmărit izolarea, identificarea, clasificarea și analizarea influenței factorilor externi asupra procesului de dezvoltare și diversificare a microbiotei levuriene din plantațiile viticole.

În urma recoltării probelor și prelucrării acestora la nivel de laborator prin metoda diluțiilor succesive și izolarea în cultură pură au fost selectate 34 de sușe care s-au evidențiat prin caracterele morfologice complexe. Sușele selecționate au fost identificate prin metoda PCR în vederea caracterizării taxonomice a acestora.

În urma prelucrării genomice s-au identificat șase tulpini de levuri ce au prezentat diversitate atât din punct de vedere al soiurilor de struguri din care au fost prelevate cât și din punct de vedere al sursei, a fenofazei și al anului izolării.

Tulpinile izolate aparțin genurilor *Solicoccozyma*, *Hanseniaspora*, *Rhodotorula*, *Filobasidium*, *Cystobasidium* și *Cryptococcus*.

Deși probele au fost prelevate eșalonat pe fenofaze de dezvoltare și din diferite surse – sol respectiv organele plantei, rezultatele au păstrat o constanță în ceea ce privește dinamica și diversitatea taxonomică a arealului viticol.

Trebuie menționat faptul că în urma analizelor de izolare și identificare toate tulpinile au confirmat tipicitatea levuriană a arealului viticol conform studiilor efectuate anterior prezentei teze de cercetare și toate speciile identificate se regăsesc deja în colecția de microorganisme a Universității de Științele Vieții „Ion Ionescu de la Brad” din Iași.

Din punct de vedere taxonomic sușele izolate au fost împărțite pe familii, ordine, clase și subîncrângături. În tabelul 9.1. sunt prezentate speciile izolate din microflora Centrului viticol Copou Iași în condițiile anilor agricoli 2020-2021 respectiv 2021-2022 împărțite pe unități sistematice.

Analizând numeric materialul levurian între unitățile sistematice se observă că speciile izolate fac parte din două subîncrângături diferite: *Ascomycotina* cu o singură specie reprezentând 16,6% din total și *Basidiomycotina* cu cinci specii cu aproximativ 83,4%.

Din punct de vedere al diversității subîncrângătura *Basidiomycotina* este cea mai heterogenă speciile izolate fiind încadrate în două clase, patru ordine, cinci familii și cinci genuri distincte. Analizând structura subîncrângăturii *Basidiomycotina* observăm că în clasa *Tremellomycetes* se regăsește cea mai mare diversitate fiind incluse trei ordine, patru familii și patru genuri diferite reprezentând astfel 80% din totalul speciilor aparținând subîncrângăturii *Basidiomycotina*.

Tabel 9.1/Table 9.1

Împărțirea speciilor de levuri izolate pe unități sistematice
Division of isolated yeast species into systematic units

Subîncr.	Clasă	Ordin	Familie	Gen	Specie	Nr. sușe
<i>Ascomycotina</i>	<i>Saccharomycetes</i>	<i>Saccharomycetales</i>	<i>Saccharomycodaceae</i>	<i>Hanseniaspora</i>	<i>H. uvarum</i>	7
<i>Basidiomycotina</i>	<i>Tremellomycetes</i>	<i>Filobasidiales</i>	<i>Piskurozymaceae</i>	<i>Solicoccozyma</i>	<i>S. aerea</i>	16
			<i>Filobasidiaceae</i>	<i>Filobasidium</i>	<i>F. floriforme</i>	4
		<i>Cystofilobasidiales</i>	<i>Cystofilobasidiaceae</i>	<i>Cystobasidium</i>	<i>C. pinicola</i>	1
		<i>Tremellales</i>	<i>Cryptococcaceae</i>	<i>Cryptococcus</i>	<i>C. aerius</i>	1
	<i>Microbotrymycetes</i>	<i>Sporidiobolales</i>	<i>Sporidiobolaceae</i>	<i>Rhodotorula</i>	<i>R. glutinis</i>	5
2 subîncrângături	3 clase	5 ordine	6 familii	6 regnuri	6 specii	34

În tabelul nr. 9.2. sunt prezentate tulpinile de levuri raportate la factorii experimentali luați în studiu.

Se poate observa că ponderea cea mai mare o deține specia *Solicoccozyma aerea* cu 47,22 % din total fiind regăsită în toate fenofazele de prelevare atât în sol cât și pe plante indiferent de anul de studiu. Specia *Hanseniaspora uvarum* s-a regăsit în sol doar în fenofaza de maturitate deplină iar pe plantă a fost prezentă atât la finalul înfloritului cât și la maturitatea deplină.

Specia *Rhodotorula glutinis* s-a regăsit atât în fenofaza de maturitate deplină cât și pe inflorescențe și bace în sol.

Specia *Filobasidium floriforme* a deținut un procent de 11,7 din totalul speciilor selecționate regăsindu-se, atât în sol, cât și pe struguri la maturitatea deplină a acestora.

Speciile *Cystobasidium pinicola* și *Cryptococcus aeris* s-au întâlnit în cel mai mic procent în arealul viticol luat în studiu. În timp ce specia genului *Cryptococcus* a fost prezentă în sol la adâncimea de 15-20 cm în fenofaza de lăstar 5-7 cm specia *Cystobasidium pinicola* s-a regăsit la finalul înfloritului pe inflorescențe.

Tabel 9.2/Table 9.2

Levuri izolate din microflora indigenă a centrului viticol Copou , în diverse fenofaze în anii 2021-2022

Isolated yeasts from the indigenous microflora of the Copou vine center, in various phenophases in the years 2021-2022

Nr. crt.	Tulpini izolate								
	Genul și specia	Nr. tulpini	%	Sol				Plantă	
				Nr. tulpini/fenofaza					
				L ₁	L ₂	F	M	F	M
1.	<i>Solicoccozyma aerea</i>	16	47,22	5	5	2	2	1	1
2.	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	7	20,5	-	-	-	1	1	5
3.	<i>Rhodotorula glutinis</i>	5	14,7	-	-	-	1	1	3
4.	<i>Filobasidium floriforme</i>	4	11,7	-	-	-	1	1	2
5.	<i>Cystobasidium pinicola</i>	1	2,94	-	-	-	-	1	-
6.	<i>Cryptococcus aeris</i>	1	2,94	1	-	-	-	-	-

L₁ - Lăstar 5-7 cm înainte de tratament; L₂ – Lăstar 5-7 cm după tratament; F – finalul înfloritului; M – maturitate deplină

Analizând diversitatea levuriană în cadrul fenofazelor luate în studiu se observă că în stadiu de lăstar 5-7 cm cel mai des a fost întâlnită specia *S. aeria* prezentând o dinamică constantă atât înainte de tratament cât și după tratament.

De asemenea numărul de sușe aparținând speciei *S. aeria* scade în cazul probelor recoltate de pe plante comparativ cu cele din sol. În stadiu de maturitate deplină probele recoltate de pe plantă prezintă o diversitate mai ridicată în ceea ce privește numărul și varietatea speciilor comparativ cu probele de sol prelevate în aceeași fenofază.

Specia *S. aeria* se regăsește preponderent în sol, atât la adâncimea de 5-10 cm, cât și la 10-15 cm și 15-20 cm în fenofaza de lăstar 5-7 cm. Pe măsură ce planta se dezvoltă numărul tulpinilor aparținând acestei specii scade gradual pe plante la maturitatea deplină incidența lor fiind minimă comparativ cu celălalte specii.

Din punct de vedere al dinamicii dezvoltării, specia *Rhodotorula glutinis* a fost întâlnită în straturile superficiale ale solului la maturitatea deplină dar ponderea cea mai mare a fost pe plantă înainte de recoltare.

Comparând ponderea celor șase sușe levuriene în funcție de fenofaza de prelevare și sursa de izolare observăm că ponderea și diversitatea cea mai mare de microorganisme o regăsim înainte de recoltare atât în sol cât și pe struguri.

Tabel 9.3/Table 9.3

Repartizarea sușelor levuriene selecționate în funcție de sursa de izolare
Distribution of selected yeast strains according to source of isolation

Nr. crt.	Tulpina izolată	Sol			Plantă
		5-10 cm	10-15 cm	15-20cm	
1.	<i>Solicoccozyma aeria</i>	3	6	5	2
2.	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	1	-	-	6
3.	<i>Rhodotorula glutinis</i>	1	-	-	4
4.	<i>Filobasidium floriforme</i>	1	-	-	3
5.	<i>Cystobasidium pinicola</i>	-	-	-	1
6.	<i>Cryptococcus aeris</i>	-	-	1	-

În tabelul nr. 9.3 sunt prezentate tulpinile selecționate pe categorii de surse de izolare. Din punct de vedere cantitativ în cazul celor trei adâncimi de prelevare luate în studiu regăsim câte șase sușe selecționate pe fiecare etaj indiferent de specia din care fac parte. Însă analizând microbiota levuriană din sol pe verticală diversitatea speciilor se observă că aceasta este invers proporțională cu adâncimea de prelevare. Astfel că la adâncimea de 15-20 cm s-au regăsit doar două specii și anume *Solicoccozyma aerea* respectiv *Cryptococcus aeris* în timp ce în stratul superficial al solului microbiota levuriană cuprinde patru specii de levuri: *Solicoccozyma aerea*, *Hanseniaspora uvarum*, *Rhodotorula glutinis* și *Filobasidium floriforme*.

Comparând cele șase specii selecționate observăm că *Solicoccozyma aerea* este prezentă atât în cazul tuturor adâncimilor de prelevare cât și pe organele vegetative ale plantelor în timp ce celelalte 5 specii se regăsesc preferențial pe surse și adâncimi de recoltare.

Trebuie menționat de altfel faptul că din speciile regăsite în stratul superficial al solului toate s-au întâlnit și pe organele vegetative ale plantelor. Acest lucru confirmă rezultatele din literatura de specialitate conform cărora levurile prezente pe struguri provin din straturile superficiale ale solului pe parcursul desfășurării perioadei de vegetație sub acțiunea vectorilor (insecte, condiții climatice, etc.)

Singura specie ce a fost întâlnită doar în sol la adâncimea de 15-20 cm și nu s-a regăsit în probele recoltate de la plante a fost *Cryptococcus aeris* iar specia *Cystobasidium pinicola* nu a putut fi depistată în sol însă a fost prezentă pe inflorescențe la finalul înfloriturii.

Dacă analizăm diversitatea microbiană a solului la diverse adâncimi cu cea a plantelor putem concluziona că ponderea și complexitatea levurilor de pe plante este mult mai ridicată comparativ cu cea a solului indiferent de fenofaza și anul de prelevare a probelor.

Probele prelevate de pe plante (struguri sau inflorescențe) au însumat un total de cca. 47% din totalul sușelor selecționate în timp ce în straturile solului regăsim un procent de aproximativ 17,5% pe fiecare adâncime din totalul de 34 de sușe.

În figura 9.1. sunt prezentate speciile levuriene selecționate în anul 2021 comparativ cu anul 2022. La o primă vedere se poate observa că între cei doi ani de studiu au variat atât incidența speciilor cât și diversitatea acestora în cadrul arealului viticol luat în studiu.

În anul 2021 s-a regăsit o pondere de 50% din totalul sușelor analizate însumând un număr de 4 specii diferite: *Solicoccozyma aeria*, *Hanseniaspora uvarum*, *Rhodotorula glutinis* și *Filobasidium floriforme*.

Pragul maxim a fost atins de specia *Solicoccozyma aeria* cu 11 sușe urmată de *Hanseniaspora uvarum* cu 4 sușe. În anul 2021 cele 11 sușe din specia *Solicoccozyma aeria* au fost distribuite atât în sol pe diverse adâncimi cât și pe plante. Din punct de vedere al fenofazei în anul 2021 *Solicoccozyma aeria* s-a întâlnit în în sol toate stadiile de dezvoltare ale plantei. Totodată în anul 2021 specia mai sus menționată a avut monopol în cadrul probelor prelevate din sol indiferent de adâncime. Conform acestor rezultate, în anul 2021, specia *Solicoccozyma aeria* a prezentat cea mai dezvoltată diversitate și distribuție în arealul viticol analizat.

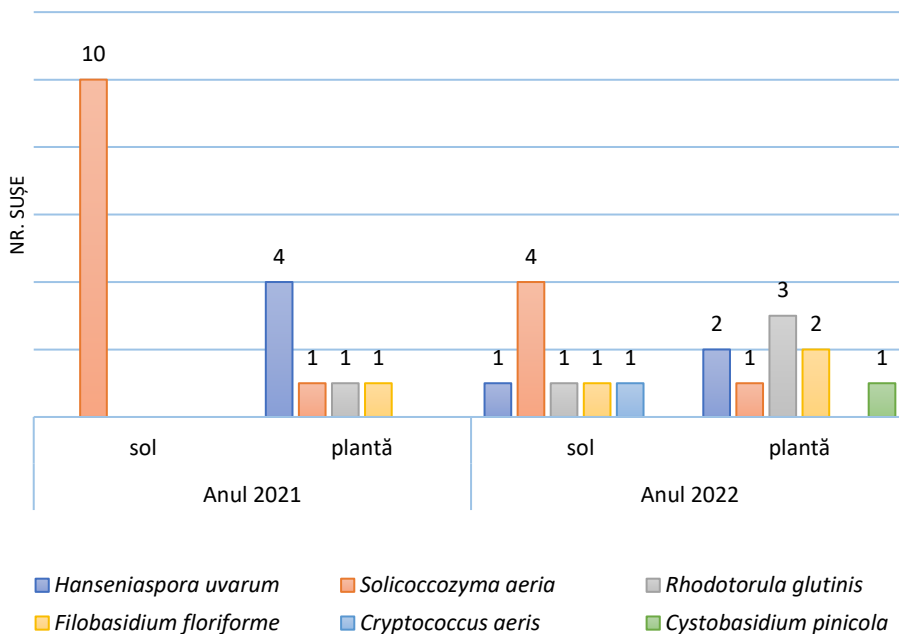


Figura 9.1 Levuri izolate din microflora viticolă a centrului viticol Copou, Podgoria Iași în anii 2021-2022

Figure 9.1 Distribution of selected yeast strains according to source of isolation

În anul 2022 s-au întâlnit toate cele 6 specii selecționate fiind distribuite atât în diferitele adâncimi ale solului cât și pe struguri și inflorescențe. Din punct de vedere al incidenței specia *Solicoccozyma aeria* a deținut și în acest an recordul însumând un nr de 5 sușe urmată de specia *Rhodotorula glutinis* cu 4 sușe și speciile *Hanseniaspora uvarum* și *Filobasidium floriforme* cu câte 3 sușe.

Comparând anii luați în studiu, al doilea an a prezentat o diversitate atât din punct de vedere a numărului de specii regăsite cât și din punct de vedere al distribuției acestora în sol și pe plante.

Comparativ cu anul precedent, anul 2022 a prezentat o repartizare uniformă a speciilor levuriene, atât pe organele plantei, cât și în solul plantațiilor.

În cadrul prezentei lucrări de cercetare s-a evidențiat ca factor de experimentare și soiul de struguri, acest factor având 4 graduări: Fetească Neagră Colecție, Fetească Neagră, Fetească Albă și Busuioacă de Bohotin.

Diversitatea și distribuția speciilor izolate în cadrul celor 4 soiuri este prezentată în figura nr. 9.2.

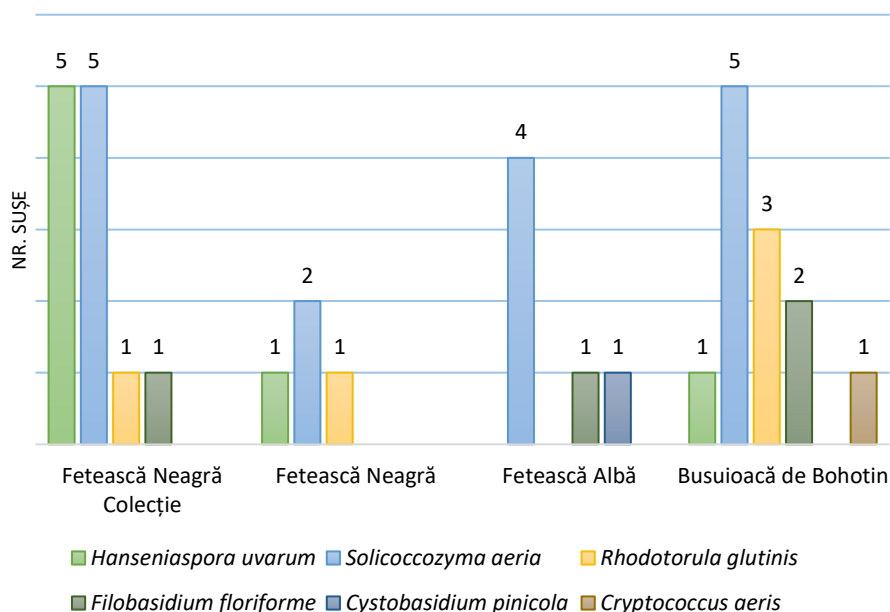


Figura 9.2 Distribuția sușelor izolate în cadrul soiurilor de struguri luate în studiu
Figure 9.2 Distribution of isolated strains within the studied grape varieties

Comparând cele 4 soiuri luate în studiu, la Busuioaca de Bohotin s-au regăsit aproape toate speciile, singura specie ce nu a fost întâlnită la acest soi fiind *Cystobasidium pinicola*. În ceea ce privește specia *Solicoccozyma aeria*, aceasta s-a întâlnit în cazul tuturor soiurilor atingând pragul maxim de sușe izolate.

Deși la Fetească Neagră Colecție nu s-au identificat toate cele 6 specii acest soi a prezentat cea mai mare distribuție a microbiotei atât în sol cât și pe plante pe parcursul procesului fenologic al viței de vie. Din punct de vedere numeric soiul Fetească Neagră a însumat doar 3 sușe selecționate aparținând speciilor *Hanseniaspora uvarum*, *Solicoccozyma aeria* respectiv *Rhodotorula glutinis*.

9.2. Rezultate privind analiza filogenetică a tulpinilor izolate

Clasificarea tradițională pe baza caracteristicilor morfologice ale sușelor levuriene prezintă dezavantajul unei caracterizări incomplete și de lungă durată (Klich A., 2002). De asemenea cercetările moleculare bazate pe analiza ADN au evidențiat că secvențierea oferă o identificare mai rapidă și fiabilă a speciilor decât metodele tradiționale (Hinrikson H.P. *et al.*, 2005). Au fost efectuate diverse cercetări privind regiunea genei ARNr ca țintă în identificarea moleculară (Iwen. P.C., 2002), inclusiv primerii ITS1 (localizat între genele ARNr 188S și 5.8S) și ITS2 (situat între gene ARNr 5.8S și 28S). În diverse cercetări, diversitatea secvențierii regiunilor ribozomale a fost analizată utilizând metoda PCR (reacția de polimerizare în lanț) urmată de analiza lungimii fragmentelor (Turenne C.Y. *et al.*, 1999) sau hibridizarea ADN (Meletiadiis J., *et al.*, 2003). Așadar lucrarea de cercetare prezentă a avut pe lista obiectivelor identificarea taxonomică a levurilor izolate în funcție de factorii experimentali în condițiile Centrului viticol Copou Iași, în urma secvențierii PCR a probelor dar și analiza filogenetică a secvențelor ADN rezultate.

Secvențele ADN ale celor șase tulpini levuriene identificate au fost analizate folosind VectorBuilder 2.1.

Pentru calcularea distanței genetice dintre cele 6 sușe izolate s-a utilizat coeficientul de corelație Jaccard iar relațiile filogenetice sunt reprezentate în figura 9.3 după metoda UPGMA (Sokal R., Michener C., 1958). Metoda UPGMA prezintă este o tehnică de clustering ce utilizează media aritmetică neponderată a distanțelor, evitând în acest mod caracterizarea disimilarității prin valori extreme (minime sau maxime) între secvențele analizate.

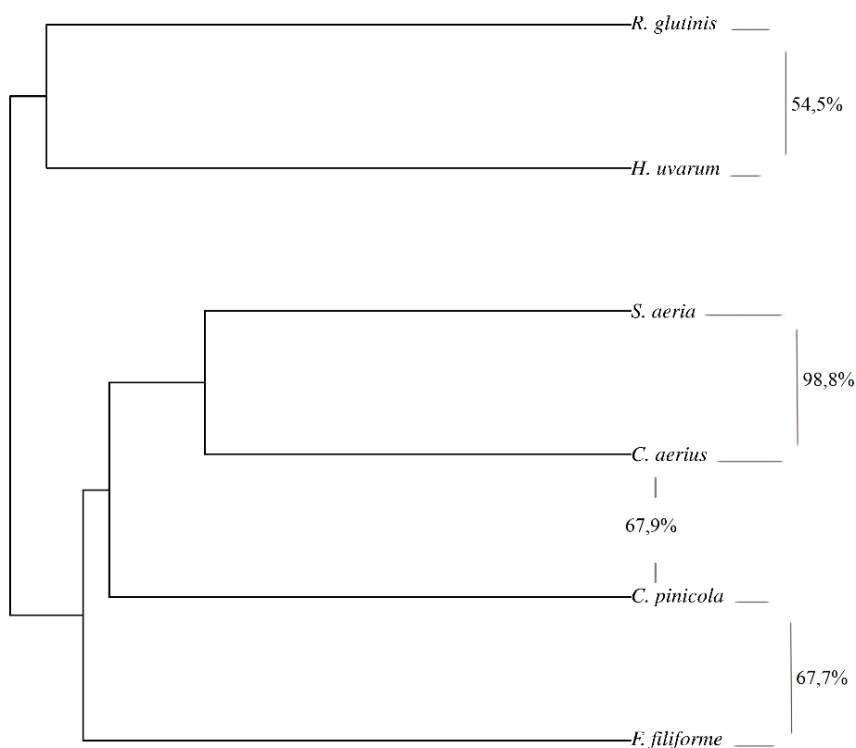


Figura 9.3 Dendrogramă generată de programul TreeView (Page, 1996), alcătuită pe bază matricei similarității după metoda UPGMA folosind coeficientul Jaccard

Figure 9.3 Dendrogram generated by TreeView program (Page, 1996), based on the similarity matrix according to the UPGMA method using the Jaccard coefficient

În figura 9.3 putem observa că între cele șase tulpini izolate din Centrul viticol Copou Iași există o similaritate cuprinsă între 98,8% și până la 54,4%.

Între cele șase sușe levuriene s-au format două subclustere: primul a cuprins speciile *Rhodotorula glutinis* și *Hanseniaspora uvarum* ce au prezentat un procent de similaritate de 54,5% iar al doilea subcluster este alcătuit din speciile: *Solicoccozyma aerea*, *Cryptococcus aerius*, *Cystobasidium pinicola* și *Filobasidium floriforme*. În cadrul celui de al doilea subcluster procentul de similaritate a fost 67,7%.

Din punct de vedere al similarității primul loc îl ocupă speciile *Solicoccozyma aerea* și *Cryptococcus aerius* ce au prezentat un indice de similaritate de 98,8%. Speciile cele mai îndepărtate filogenetic au fost *Rhodotorula glutinis* și *Hansiaspora uvarum* având un indice de similaritate de doar 54,5%.

Tabel 9.4/Table 9.4

Matricea simetrică conform coeficientului Jaccard (% similitudine) între cele 6 tulpini izolate din condițiile Centrului Viticol Copou Iași
The symmetrical matrix according to the Jaccard coefficient (% similarity) between the 6 strains isolated from the conditions of the Copou Iași vine Center

Tulpina	C. <i>aerius</i>	C. <i>pinicola</i>	F. <i>filiforme</i>	H. <i>uvarum</i>	R. <i>glutinis</i>	S. <i>aeria</i>
<i>C. aerius</i>	100					
<i>C. pinicola</i>	67,9	100				
<i>F. filiforme</i>	55,4	67,7	100			
<i>H. uvarum</i>	56,2	55,5	55,8	100		
<i>R. glutinis</i>	49,4	52,1	65,6	54,5	100	
<i>S. aeria</i>	98,8	67,8	65,2	54,9	59,3	100

Comparând rezultatele din tabelul nr. 9.4 observăm că tulpinile *S.aeria* și *C.aerius* prezintă procentul de similaritate cel mai ridicat (98,8%), urmate de *C. pinicola* și *C. aerius* care au prezentat similaritate de 67,9% în timp ce nivelul minim de similaritate s-a regăsit între tulpinile *Rhodotorula glutinis* și *Cryptococcus aerius* ce au înregistrat un procent de similaritate de doar 49,4%.



Figura 9.4 Compararea secvențelor ADN ale sușelor izolate prin programul VectorBuilder 2.0

Figure 9.4 Comparison of DNA sequences of isolated strains by VectorBuilder 2.0 program

9.3. Rezultate privind studierea morfologică a sușelor de levuri izolate

Analiza morfologică a levurilor este dirijată pe două direcții: caracterizarea macroscopică și cea microscopică.

Din punct de vedere macroscopic au fost analizate caracteristicile coloniilor dezvoltate în urma însămânțării pe mediu nutritiv solid GPCA (Glucose Peptone Chloramphenicol Agar) și anume: forma, profilul, structura și culoarea coloniei.

După perioada de incubare la 28°C timp de 3-5 zile coloniilor formate în plăcile Petri au fost analizate în funcție de particularitățile generale și caracteristicile microscopice ale celulelor au fost izolate pe mediu nutritiv coloniile distincte pentru a putea analiza și descrie concret caracteristicile morfologice ale acestora.

În urma acestor analize s-au izolat 17 sușe levurice din anul 2021 (7 de pe plante și 10 din sol de la diferite adâncimi) și 17 din anul 2022 (9 de pe plante și 8 din sol).

Fiecare sușă levurică izolată din sol și de pe plantă a fost codificată prin litere și cifre în vederea analizării și interpretării rezultatelor într-un mod mai facil. Astfel cele 34 de sușe izolate în cei doi ani de studiu au fost numerotate de la 1 la 34 în ordine aleatorie și codificate folosind o literă pentru fiecare din soiurile căror aparțin după cum urmează: A (Fetească Albă), N (Fetească Neagră), C (Fetească Neagră Colecție) și B (Busuioacă de Bohotin)

9.2.1. Caracteristicile morfologice ale sușelor levuriene izolate în anul 2021

În urma prelevărilor atât din sol cât și de pe plante în fenofazele de vegetație ale anului 2021 au fost izolate 17 sușe levurice ce prezintă caracteristici morfologice distincte din punct de vedere al structurii și culorii coloniei.

În tabelul nr. 9.5. sunt descrise caracteristicile morfologice ale coloniilor levuriene selecționate în anul 2021 din Centrul viticol Copou Iași.

Tabel 9.5/Table 9.5

Caracteristicile morfologice ale coloniilor levurilor izolate în anul 2021
Morphological characteristics of isolated yeast colonies in 2021

Codul sușei	Sursa de izolare	Forma coloniei	Profilul coloniei	Suprafața coloniei	Culoarea coloniei
C1	Fetească Neagră Colecție	rotundă	convex	lucioasă	Alb-crem
C2	Fetească Neagră Colecție	rotundă	convex	lucioasă	Alb-crem
C3	Fetească Neagră Colecție	rotundă	convex	lucioasă	Alb-crem
C4	Fetească Neagră Colecție	rotundă	convex	lucioasă	Alb-crem
A5	Fetească Albă	rotundă	convex	mată ușor mucoidă	Crem
B6	Busuioacă de Bohotin	rotundă	puțin convex	mată	Crem
N7	Fetească Neagră	rotundă	puțin convex	mată ușor mucoidă	Crem-gri
C8	Fetească Neagră Colecție	rotundă	puțin convex	mată ușor mucoidă	Crem
B9	Busuioacă de Bohotin	rotundă	convex	mată	Crem
B10	Busuioacă de Bohotin	rotundă	convex	mată ușor mucoidă	Crem
B11	Busuioacă de Bohotin	rotundă	puțin convex	mată ușor mucoidă	Crem
B12	Busuioacă de Bohotin	rotundă	puțin convex	mată	Crem-gălbui
C13	Fetească Neagră Colecție	rotundă	convex	mată ușor mucoidă	Crem
C14	Fetească Neagră Colecție	rotundă	puțin convex	mată	Crem
C15	Fetească Neagră Colecție	rotundă	convex	mată ușor mucoidă	Crem-gălbui
B16	Busuioacă de Bohotin	rotundă	convex	lucioasă	Roșie-portocalie
B17	Busuioacă de Bohotin	rotundă	plat	lucioasă - mucoidă	Alb-roz deschis

Primele patru sușe izolate codate C1-C4 prezintă un profil convex, suprafața coloniei fiind lucioasă iar colorația este alb spre crem. Analizate la microscop, celulele celor patru sușe prezintă formă ușor apiculată.

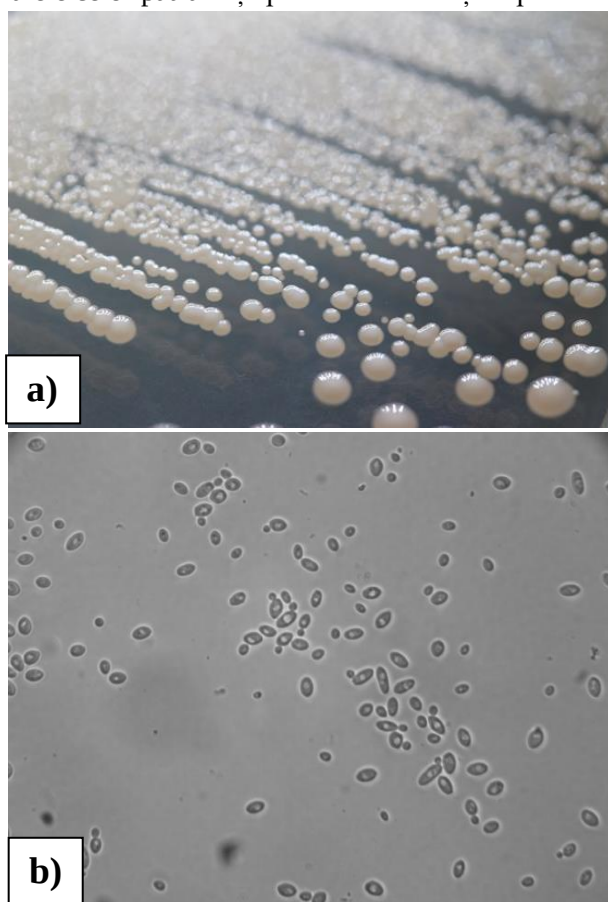


Figura 9.5 Caracterele morfologice ale sușelor C1-C4 - (a) aspectul coloniei, (b) aspectul celulei la microscop

Figure 9.5 Morphological characters of strains C1-C4 - (a) colony appearance, (b) cell appearance under microscope
(foto originale/original photos)

Analizând caracteristicile coloniilor și forma celulelor la microscop putem încadra aceste patru sușe în genul *Hanseniaspora*. În urma analizelor de secvențiere genomică și caracterizare taxonomică rezultatele confirmă apartenența tulpinilor C1-C4 în genul *Hanseniaspora* specia *H. uvarum*.

Cele patru sușe au fost prelevate în fenofaza de maturitate deplină de pe struguri din soiul Fetească Neagră Colecție.

Următoarele 11 (A5-C15) sușe izolate din soiurile Fetească Neagră, Fetească Neagră Colecție, Fetească Albă și Busuioacă de Bohotin (figura 9.4) au prezentat caracteristici morfologice asemănătoare respectiv: suprafața coloniei este mată, ușor mucoidă la unele sușe, profilul convex, margini întregi iar colorația coloniilor a variat de la alb murdar până la crem-gri.

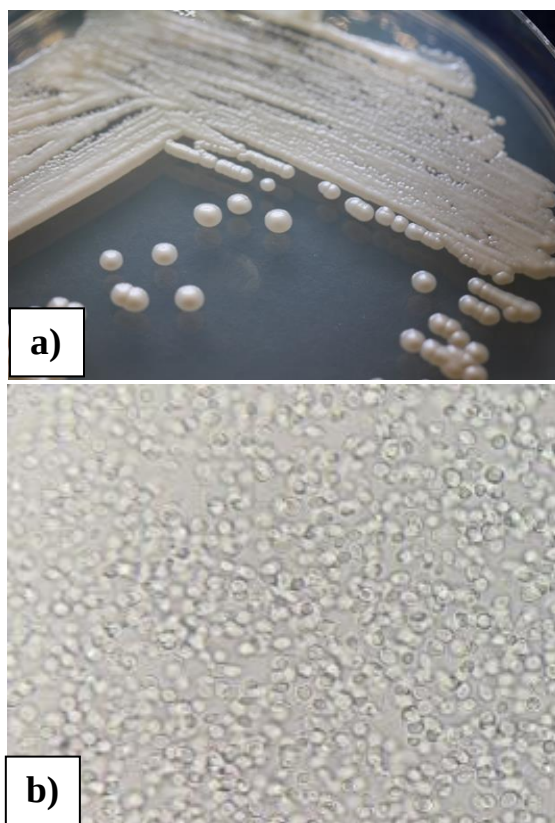


Figura 9.6 Caracterele morfologice ale sușelor A5-C15 - (a) aspectul coloniei, (b) aspectul celulei la microscop

Figure 9.6 Morphological characters of strains A5-C15 - (a) colony appearance, (b) cell appearance under microscope
(foto originale/original photos)

Analizate la microscop, celule prezintă formă ovoid-elipsoidală înmulțirea acestora realizându-se prin înmugurire. Având aceste caracteristici macro- și microscopice analizele morfologice confirmă identificarea genomică și încadrează cele 11 sușe în genul *Solicoccozyma* specia *S. aerea*. Din punct de vedere al sursei de izolare această specie a prezentat în anul 2021 o largă diversitate în ceea ce privesc factorii experimentali luați în studiu.

A 16-a sușă – B16 a fost izolată de pe struguri la maturitatea deplină a soiului Busuioacă de Bohotin. Această tulpină a prezentat o colorație portocalie a coloniei (figura 9.7 a.), suprafață lucioasă ușor mucilaginoasă putând fi cu ușurință încadrată în genul *Rhodotorula*.

Privite la microscop (figura 9.7. b.) celulele au prezentat formă ovoidală, înmulțirea realizându-se prin înmugurire.

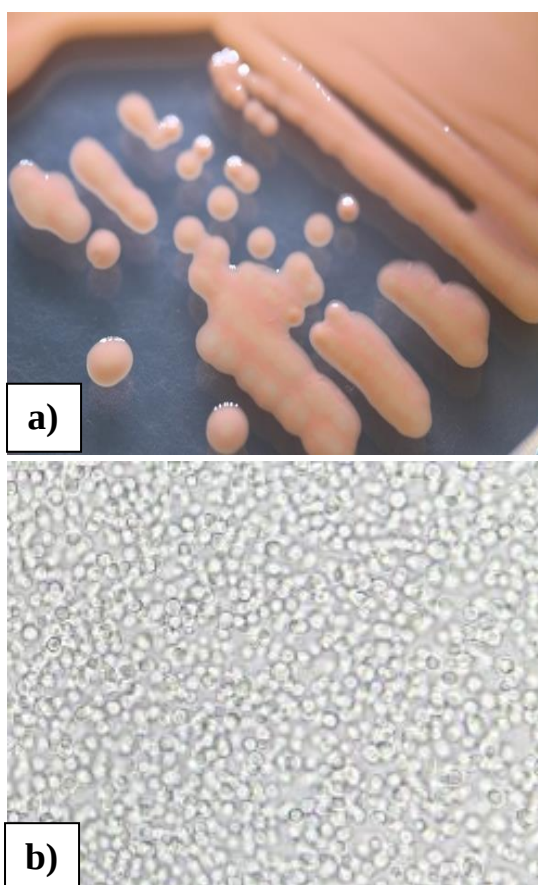


Figura 9.7 Caracterele morfologice ale sușei B16 - (a) aspectul coloniei, (b) aspectul celulei la microscop

Figure 9.7 Morphological characters of strain B16 - (a) colony appearance, (b) cell appearance under the microscope
(foto originale/original photos)

În urma analizelor genomice, tulpina B16 a fost încadrată în genul *Rhodotorula* specia *R. glutinis*. Această specie a fost în anul 2021 doar la soiul Busuioacă de Bohotin pe struguri înainte de recoltare.

Ultima tulpină selecționată (B17) în anul 2021 din arealul viticol luat în studiu s-a caracterizat printr-o suprafață lucioasă mucilaginoasă cu o colorație alb-sidefat spre roz pal, profil convex și forma coloniei fiind rotundă (figura 9.8. a.).

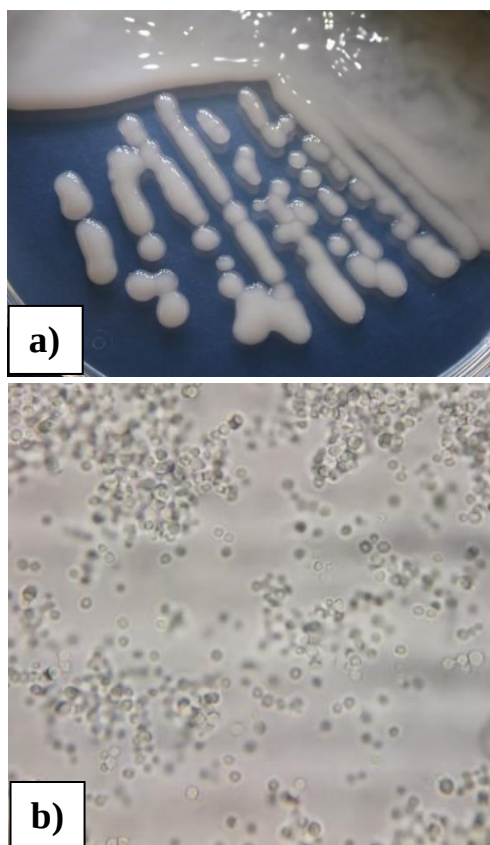


Figura 9.8 Caracterele morfologice ale sușei B17 - (a) aspectul coloniei, (b) aspectul celulei la microscop

Figure 9.8 Morphological characters of strain B17 - (a) colony appearance, (b) cell appearance under the microscope
(foto originale/original photos)

Privite la microscop (figura 9.8. b.) celulele prezintă formă ovoidală și elipsoidală fără urme de înmugurire.

9.2.2. Caracteristicile morfologice ale sușelor levuriene izolate în anul 2022

În cel de-al doilea an de studiu s-a selecționat un nr de 17 sușe în funcție de caracteristicile micro- și macromorfologice ale acestora. În tabelul nr. 9.6. sunt prezentate caracteristicile morfologice ale coloniilor izolate în anul 2022.

Tabel 9.6/Table 9.6

Caracteristicile morfologice ale coloniilor levurilor izolate în anul 2022
Morphological characteristics of isolated yeast colonies in 2022

Codul sușei	Sursa de izolare	Forma coloniei	Profilul coloniei	Suprafața coloniei	Culoarea coloniei
B18	Busuioacă de Bohotin	rotundă	convex	lucioasă	Alb-crem
N19	Fetească Neagră	rotundă	convex	lucioasă	Alb-crem
C20	Fetească Neagră Colecție	rotundă	convex	lucioasă	Alb-crem
N21	Fetească Neagră	rotundă	convex	mată ușor mucoidă	Crem
A22	Fetească Albă	rotundă	convex	mată	Crem
A23	Fetească Albă	rotundă	convex	mată ușor mucoidă	Crem
A24	Fetească Albă	rotundă	convex	mată	Crem
C25	Fetească Neagră Colecție	rotundă	puțin convex	mată ușor mucoidă	Crem-gri
N26	Fetească Neagră	rotundă	convex	lucioasă	Roșu-portocaliu
B27	Busuioacă de Bohotin	rotundă	convex	lucioasă	Roșu-portocaliu
B28	Busuioacă de Bohotin	rotundă	convex	lucioasă	Roșu-portocaliu
C29	Fetească Neagră Colecție	rotundă	convex	lucioasă	Roșu-portocaliu
B30	Busuioacă de Bohotin	rotundă	plat	Mată - mucoidă	Alb-roz deschis
C31	Fetească Neagră Colecție	rotundă	plat	Mată - mucoidă	Alb-roz deschis
A32	Fetească Albă	rotundă	plat	Mată - mucoidă	Alb-roz deschis
A33	Fetească Albă	rotundă	convex	lucioasă	Roz-deschis
B34	Busuioacă de Bohotin	rotundă	convex	lucioasă	alb

Primele trei sușe de levuri izolate din anul 2022 (B18-C20) prezintă colonii (fig. 9.9 a.) cu suprafața lucioasă cu o colorație ce variază de la alb la crem și un profil convex. Cele trei sușe prelevate în anul 2022 prezintă aceleași caracteristici morfologice ca sușele C1-C4 din anul 2021.

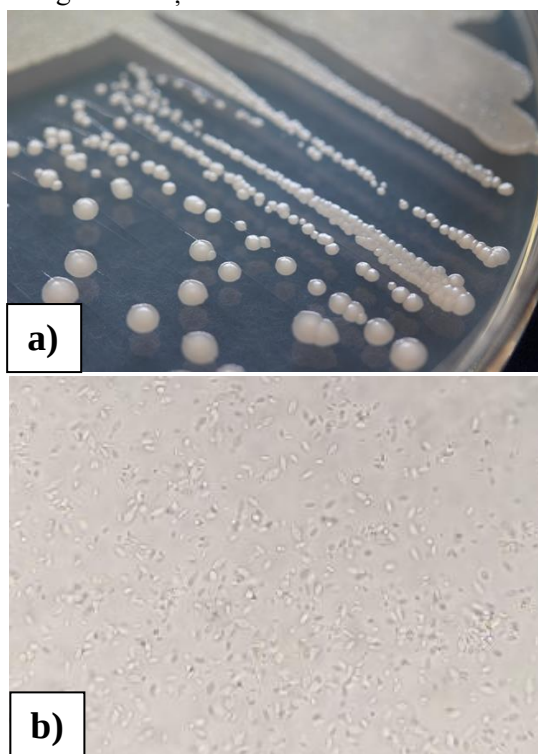


Figura 9.9 Caracterile morfologice ale sușelor B18-C20 - (a) aspectul coloniei, (b) aspectul celulei la microscop

Figure 9.9 Morphological characters of strains B18-C20 - (a) colony appearance, (b) cell appearance under microscope
(foto originale/original photos)

Privite la microscop (figura 9.9 b.) prezintă celule de formă apiculată caracteristice genului *Hanseniaspora*. Analizele de secvențiere genomică prin metoda PCR au confirmat apartenența sușelor codate B18, N19 și C20 la genul *Hanseniaspora*, specia *H.uvarum*.

Trebuie precizat faptul că sușele prezentate anterior au fost prelevate la finalul înfloritului și în stadiu de maturitate deplină a bacelor, atât de pe inflorescențe și struguri, cât și din sol din stratul superficial (adâncimea de 5-10 cm).

O parte din sușele selecționate din soiurile Fetească Albă, Fetească Neagră și Fetească Neagră Colecție stadiul de maturitate deplină, finalul înfloritului și lăstar 5-7 cm în anul 2022 au prezentat caracteristici morfologice asemănătoare. Tulpinile izolate codate N21, A22, A23, A24 și C25 prezintă colonii de colorația alb-crem, margini întregi și suprafața mată ușor mucoidă în cazul unor sușe (figura 9.10 a.)

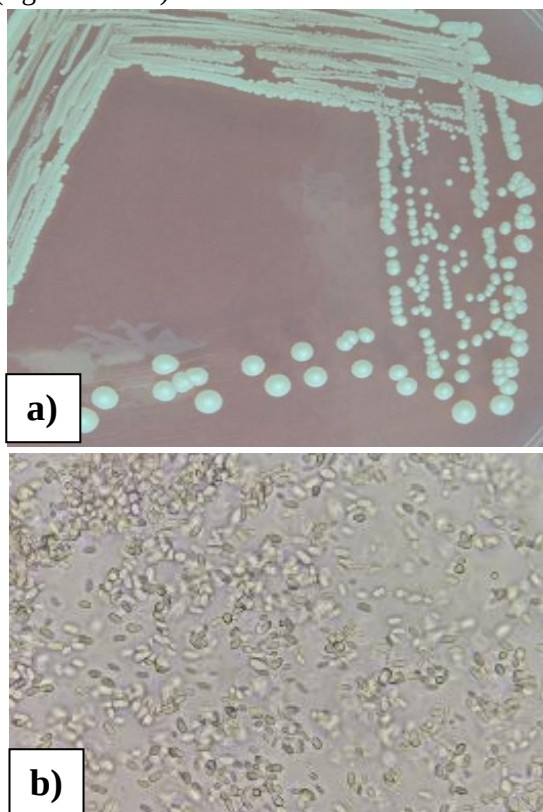


Figura 9.10 Caracterele morfologice ale sușelor N21-C25 - (a) aspectul coloniei, (b) aspectul celulei la microscop

Figure 9.10 Morphological characters of strains N21-C25 - (a) colony appearance, (b) cell appearance under microscope
(foto originale/originl photos)

În urma identificării prin metoda secvențierii PCR cele cinci sușe analizate mai sus au fost încadrate în genul *Solicoccozyma* specia *S. aeria* alături de celelate 11 sușe selecționate în anul 2021 ce aparțin tot aceleiași specii.

Sușele codate N26, B27, B28 și C29 au prezentat caractere morfologice asemenătoare respectiv: suprafață lucioasă, colorație portocalie specifică genului *Rhodotorula* (figura 9.11. a.). Comparând caracterele morfologice cu sușele izolate în anul 2021, aceste patru sușe se pot încadra cu ușurință în același gen cu sușa B16.

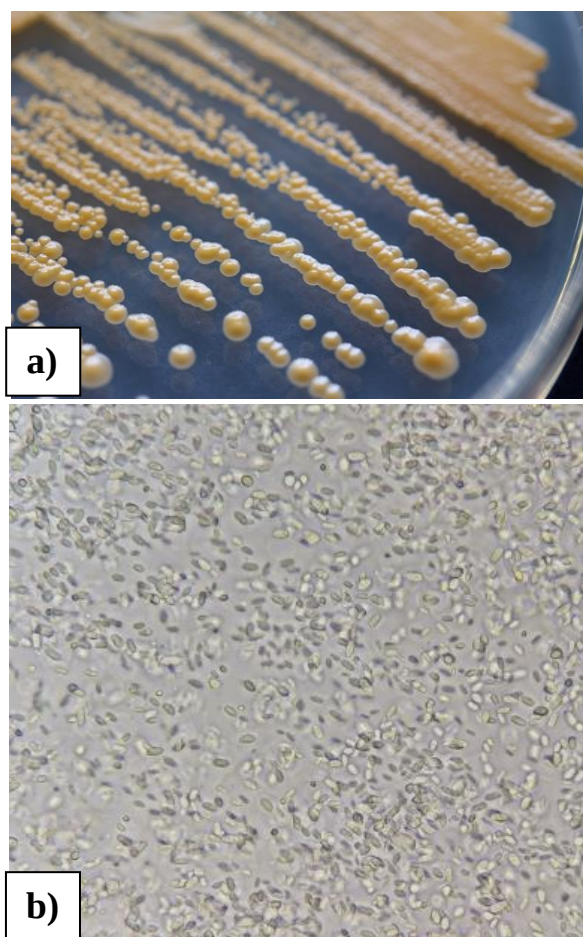


Figura 9.11 Caracterele morfologice ale sușelor N26-C29 - (a) aspectul coloniei, (b) aspectul celulei la microscop

Figure 9.11 Morphological characters of strains N26-C29 - (a) colony appearance, (b) cell appearance under microscope
(foto originale/original photos)

Analizate la microscop, sușele au prezentat celule de formă ovoidală (figura nr. 9.11. b.)

În urma analizelor secvențierii genomice, tulpinile N26-C29 au fost încadrate în genul *Rhodotorula* specia *R. glutinis*. Această specie în anul 2022 a prezentat o distribuție mai ridicată între soiurile de struguri analizate comparativ

cu anul 2021 fiind identificată atât la soiul Busuioacă de Bohotin cât și la Fetească Neagră și Fetească Neagră Colecție.

Tulpinile B30, C31 și A32 izolate din soiurile Busuioacă de Bohotin, Fetească Neagră Colecție și Fetească Albă la finalul înfloritului respectiv maturitatea deplină a bacelor prezintă caractere morfologice asemănătoare fiind reprezentate prin colonii de formă rotundă, profil convex, suprafață lucioasă, structură mucilaginoasă și colorație ce variază de la alb până la roz pudră în cazul unor sușe (figura 9.12. a).

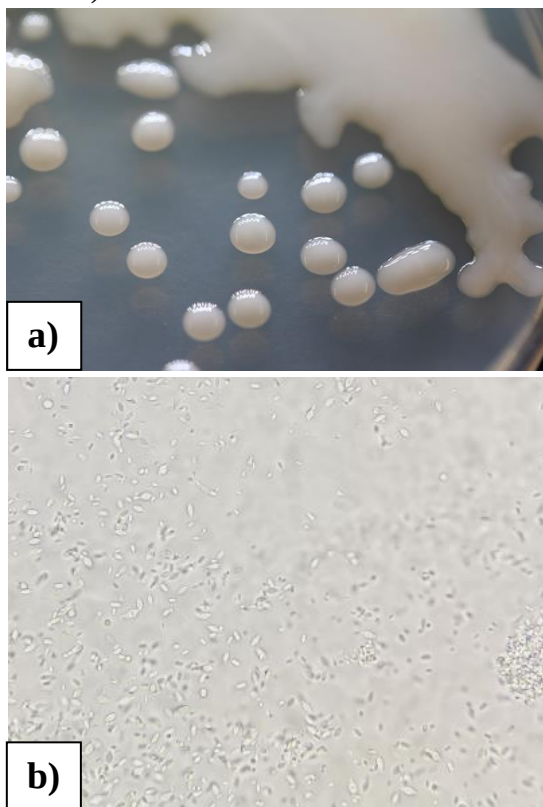


Figura 9.12 Caracterele morfologice ale sușelor B30-A32 - (a) aspectul coloniei, (b) aspectul celulei la microscop

Figure 9.12 Morphological characters of strains B30-A32 - (a) colony appearance, (b) cell appearance under microscope
(foto originale/original photos)

Comparând morfologia sușelor mai sus menționate cu cele izolate în 2021 observăm că acestea se pot încadra în același gen cu tulpina B17. În urma analizelor de secvențiere ADN prin metoda PCR acest lucru s-a confirmat, toate cele 4 sușe selecționate încadrându-se în genul *Filobasidium* specia *F. floriforme*.

Tulpina A33 izolată din probele prelevate la finalul înfloritului din inflorescențele soiului Fetească Albă prezintă caractere morfologice diferite față de toate celelalte sușe selecționate atât în 2022 cât și în anul precedent. Din punct de vedere al caracteristicilor coloniilor a prezentat o colorație roz deschis cu suprafața lucioasă, un profil convex și forma coloniei rotundă (figura 9.13. a.)

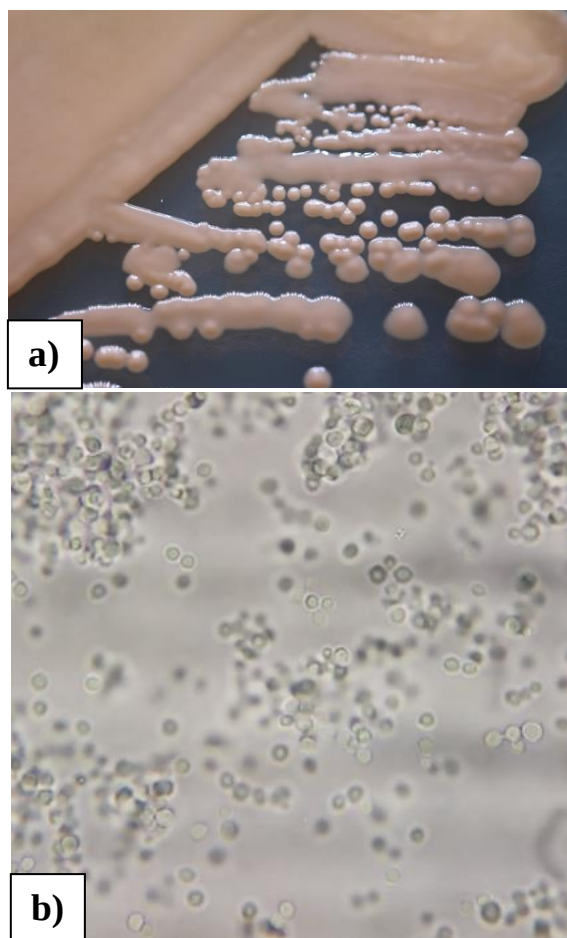


Figura 9.13 Caracterele morfologice ale sușei A33 - (a) aspectul coloniei, (b) aspectul celulei la microscop

Figure 9.13 Morphological characters of strain A33 - (a) colony appearance, (b) cell appearance under the microscope
(foto originale/original photos)

Celulele sușei A33 văzute la microscop au prezentat formă ovoidală cu urme de înmugurire. Rezultatele analizei secvențierii ADN au încadrat această sușă în genul *Cystobasidium* cu specia *C. pinicola*

Ultima sușă izolată din cel de-al doilea an de studiu a prezentat caractere macro- și micromorfologice distincte comparativ cu celelalte sușe analizate și identificate mai sus. Tulpina B34 s-a remarcat prin colonii de colorație albă până la crem deschis, suprafața lucioasă și forma rotundă (figura 9.14).

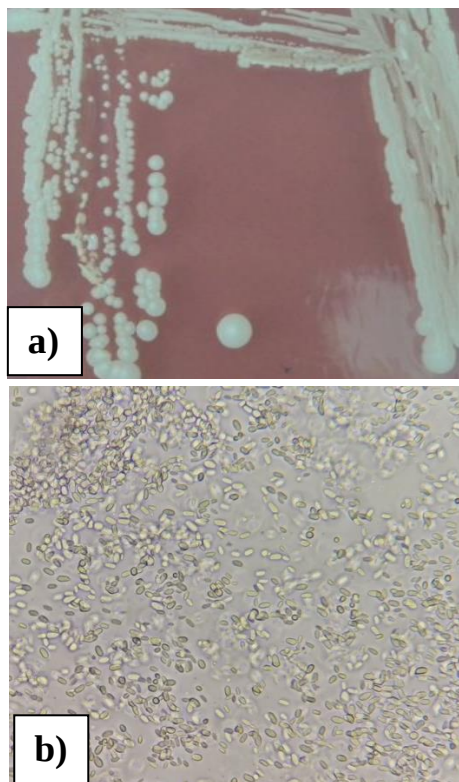


Figura 9.14 Caracterele morfologice ale sușei B34 - (a) aspectul coloniei, (b) aspectul celulei la microscop

Figure 9.14 Morphological characters of strain B34 - (a) colony appearance, (b) cell appearance under the microscope
(foto originale/originl photos)

Tulpina B34 a fost izolată din soiul Busuioacă de Bohotin probele prelevate din sol (adâncimea 15-20 cm). În urma secvențierii ADN și compararea cu informațiile din baza de date genetice NCBI această tulpină a fost încadrată în genul *Cryptococcus* specia *C. aerius*.

CONCLUZII

Concluzii generale privind rezultatele obținute în cadrul tezei de cercetare

- ✿ În practica viti-vinicolă verigile de bază în vederea obținerii vinurilor de înaltă clasă sunt strugurii ce trebuie să respecte standardele de calitate atât tehnologic cât și din punct de vedere al stării de sănătate și levurile selecționate din microbiota vinicolă a podgoriei ce au capacitatea de a reflecta personalitatea și tipicitatea arealului viticol.
- ✿ În cadrul prezentei teze de doctorat rezultatele obținute aduc contribuții semnificative în cunoașterea și identificarea influenței factorilor pedoclimatici și fitosanitari asupra diversității și calității microbiotei levuriene din cadrul arealului viticol studiat.
- ✿ Administrarea tratamentelor fitosanitare în anii luați în studiu a prezentat o influență minoră asupra diversității și distribuției microbiotei în sol și pe organele vegetative ale plantațiilor influență înregistrată în cazul tuturor celor 4 soiuri analizate.
- ✿ De asemenea activitatea de cercetare a adus în prim plan informații remarcabile în ceea ce privește izolarea și selecționarea unor sușe levuriene din microbiota indigenă în condițiile pedoclimatice specifice Centrului viticol Copou Iași.
- ✿ Din punct de vedere al condițiilor climatice anul 2022 a înregistrat nivele termice și pluviometrice propice atât pentru creșterea și dezvoltarea plantațiilor viticole cât și pentru creșterea diversității și distribuției levurilor.

Concluzii privind observațiile fenologice

- ✿ Cunoașterea și analiza stadiilor fenologice ale viței de vie prezintă o importanță deosebită în tehnologia de cultură întrucât oferă informații privind aplicarea tratamentelor pentru combaterea bolilor și dăunătorilor, a fertilizanților și bineînțeles în calculul estimativ al calității și cantității producției.
- ✿ În funcție de variațiile climatice dintre cei doi ani luați în studiu soiurile analizate s-au comportat diferit, declanșarea fenofazelor și dinamica dezvoltării viței de vie realizându-se eșalonat.

- ☼ Din punct de vedere al perioadei de vegetație, în cazul tuturor celor 4 soiuri acestea au însumat mai multe zile de vegetație în anul 2022 comparativ cu anul 2021. Toate cele 4 soiuri analizate au prezentat o înflorire tardivă în al doilea an de studiu, evoluția acesteia încadrându-se într-o medie de 3 zile.
- ☼ Pe parcursul celor doi ani, soiurile luate în experiență au prezentat un decalaj de aproximativ 10 zile între pragul de maturitate deplină din anul 2021 și cel din 2022. Aceste decalaj rămâne aproximativ constant în valoare de la fenofaza de dez mugurit a anului 2021 respectiv 2022 și până la perioadele de pârgă și maturitate deplină a celor doi ani
- ☼ Analizând cele 4 soiuri luate în experiență pe fiecare an de studiu, acestea nu au înregistrat diferențe însemnate în ceea ce privește numărul total de zile de vegetație media fiind de 171 zile în anul 2021 respectiv 183 zile în 2022.
- ☼ Analizând dinamica evoluției fenofazelor în anul 2022, putem concluziona că toate cele patru soiuri de viță de vie din cadrul experimentului s-au adaptat cu ușurință condițiilor climatice dificile ale anului agricol marcat de secetă la debutul în vegetație.

Concluzii privind măsurătorile biometrice realizate în câmp

- ☼ În ceea ce privește nivelul productivității, caracteristică ce este dependentă de mărimea strugurilor, a rezultat că soiul Fetească albă în condițiile anilor 2021-2022 a prezintat cel mai ridicat indice de productivitate urmat îndeaproape de soiul Busuioacă de Bohotin. Pragul minim de productivitate l-a atins Feteasca neagră colecție, având o medie a productivității relative de numai 76,5 fiind caracterizat printr-un număr mai mic de inflorescențe pe lăstar.
- ☼ Procentul lăstarilor fertili la soiurile luate în cercetare s-au menținut în același interval cu excepția soiului din colecție Fetească Neagră, care a prezentat o valoare procentuală scăzută (42,5%) comparativ cu celelalte 3 soiuri (aprox. 75,5%), atât în primul an cât și în al doilea an de studiu.
- ☼ În anii 2021-2022 cele 4 soiuri au prezentat nivele apropiate de creștere a lăstarilor în cadrul primei măsurători . Din punct de vedere al dinamicii de creștere a celor 4 soiuri în perioada 01.06.2021-20.06.2021 Fetească Neagră și Fetească Neagră Colecție au înregistrat creșteri mai intensive comparativ cu soiurile Busuioacă de Bohotin și Fetească Albă.
- ☼ În cazul soiurilor luate în experimentare cele mai mari creșteri ale lăstarilor indiferent de an s-au regăsit la soiul Fetească neagră cu o medie

de 104cm urmat de Fetească Neagră Colecție ce a însumat o medie de 102 cm.

- Atât în primul an de studiu cât și în al doilea an, în perioada celor trei măsurători rata de creștere s-a menținut constantă la toate cele 4 soiuri din experiență.

Concluzii privind analiza cantitativă a levurilor izolate

- Tratatamentul fitosanitar aplicat în fenofaza de lăstar 5-7 a avut un impact negativ asupra dezvoltării levurilor, încărcătura levuriană din sol în cazul celor trei adâncimi de prelevare fiind inferioară comparativ cu cea anterioară tratamentului la toate cele 4 soiuri luate în experiență.
- În împărțirea pe verticală a levurilor în sol se constată că numărul de microorganisme prezintă pantă descendentă invers proporțională cu adâncimea de prelevare, astfel se poate deduce că scăderea constantă a activității microbiotei din straturile inferioare este caracterizată prin lipsa oxigenului, scăderea cantității de substanțe nutritive și bineînțeles alcalinizarea treptată a solului.
- De asemenea, variațiile privind încărcătura microbiană între cele 4 soiuri în diferite fenofaze de dezvoltare a plantei ne indică faptul că microbiota solului este dependentă de ritmul și dinamica dezvoltării fiecărui soi de viță de vie în parte, corelată bineînțeles cu nivelul calității solului și condițiile climatice ale anului luat în studiu.
- Diferențele semnalate între factorii experimentali ai studiului (adâncimi de prelevare, soiuri, fenofaze de prelevare) evidențiază faptul că solul reprezintă o reală sursă microbiană bogată și diversificată. Numărul levurilor într-un anumit loc este influențat direct de cantitatea de carbon și substanțe nutritive necesare dezvoltării.
- În urma rezultatelor exprimate și corelate cu factorii experimentali se constată că încărcătura levurică din solul plantațiilor viticole în condițiile Centrului Viticol Copou Iași este influențată de răspândirea pe verticală a microorganismelor, soiul viței de vie, fenofaza de dezvoltare a plantei și nu în ultimul rând de diversele tratamente aplicate în vegetație culturilor viticole.
- În ceea ce privește dezvoltarea microbiotei de pe plante în anii luați în studiu, 2021 respectiv 2022 s-a observat că temperaturile ridicate din vara anului 2022 și decalarea fenofazelor cu aproximativ 2 săptămâni față de anul precedent, au determinat o dezvoltare mai accentuată a microbiotei de pe plante.

- ☼ Dacă punem în comparație influența evoluției microbiotei din sol în cei doi ani de studiu asupra încărcăturii levurice a plantelor putem concluziona că indiferent de soiul luat în studiu și de anul de prelevare, numărul de microorganisme din sol este direct proporțional cu evoluția și dinamica dezvoltării levurilor de pe organele vegetative ale plantei, respectiv inflorescențe, frunze și struguri.
- ☼ În funcție de stadiul de vegetație și sursa din care se prelevează probe încărcătura microbiană poate caracteriza plantația viticolă din punct de vedere al calității și distribuției microorganismelor atât din sol cât și de pe plantă.

Concluzii privind taxonomia sușelor izolate

- ☼ În urma prelucrării genomice s-au identificat 6 tulpini de levuri ce au prezentat diversitate atât din punct de vedere al soiurilor de struguri din care au fost prelevate cât și din punct de vedere al sursei, a fenofazei și al anului izolării. Tulpinile izolate aparțin genurilor *Solicoccozyma*, *Hanseniaspora*, *Rhodotorula*, *Filobasidium*, *Cystobasidium* și *Cryptococcus*.
- ☼ Analizând numeric materialul levurian între unitățile sistematice speciile izolate fac parte din două subîncrângături diferite: Ascomycotina cu o singură specie reprezentând 16,6% din total și Basidiomycotina cu 5 specii cu aproximativ 83,4%.
- ☼ Trebuie menționat faptul că în urma analizelor de izolare și identificare toate tulpinile au confirmat tipicitatea levurică a arealului viticol conform studiilor efectuate anterior prezentei teze de cercetare și toate speciile identificate se regăsesc deja în colecția de microorganisme a Universității de Științele Vieții „Ion Ionescu de la Brad” din Iași.
- ☼ Ponderea cea mai mare o deține specia *Solicoccozyma aeria* cu 47,22 % din total fiind regăsită în toate fenofazele de prelevare atât în sol cât și pe plante indiferent de anul de studiu.
- ☼ Specia *Rhodotorula glutinis* a acumulat un număr de 5 tulpini izolate atât din sol în fenofaza de maturitate deplină cât și pe inflorescențe și bace iar specia *Filobasidium floriforme* a deținut un procent de 11,7 din totalul speciilor selecționate regăsindu-se atât în sol cât și pe struguri la maturitatea deplină a acestora.
- ☼ Speciile *Cystobasidium pinicola* și *Cryptococcus aeris* s-au întâlnit în cel mai mic procent în arealul viticol luat în studiu. În timp ce specia genului *Cryptococcus* a fost prezentă în sol la adâncimea de 15-20 cm în fenofaza

de lăstar 5-7 cm specia *Cystobasidium pinicola* s-a regăsit la finalul înfloritului pe inflorescențe.

- ❁ Trebuie menționat de altfel faptul că din speciile regăsite în stratul superficial al solului toate s-au întâlnit și pe organele vegetative ale plantelor. Acest lucru confirmă rezultatele din literatura de specialitate conform cărora levurile prezente pe struguri provin din straturile superficiale ale solului pe parcursul desfășurării perioadei de vegetație sub acțiunea vectorilor (insecte, condiții climatice, etc.)
- ❁ Singura specie ce a fost întâlnită doar în sol la adâncimea de 15-20 cm și nu s-a regăsit în probele recoltate de pe plante a fost *Cryptococcus aeris* iar specia *Cystobasidium pinicola* nu a putut fi depistată în sol însă a fost prezentă pe inflorescențe la finalul înfloritului.
- ❁ Comparând anii luați în studiu, al doilea an a prezentat o diversitate atât din punct de vedere a numărului de specii regăsite cât și din punct de vedere al distribuției acestora în sol și pe plante. Se observă o repartizare uniformă a speciilor pe plantă și sol în anul 2022 lucru ce nu se regăsește în anul 2021.
- ❁ Comparând cele 4 soiuri luate în studiu, la Busuioaca de Bohotin s-au regăsit aproape toate speciile, singura specie ce nu a fost întâlnită la acest soi fiind *Cystobasidium pinicola*. În ceea ce privește specia *Solicoccozyma aeria*, aceasta s-a întâlnit în cazul tuturor soiurilor atingând pragul maxim de sușe izolate.
- ❁ Deși la Fetească Neagră Colecție nu s-au identificat toate cele 6 specii acest soi a prezentat cea mai mare distribuție a microbiotei atât în sol cât și pe plante pe parcursul procesului fenologic al viței de vie. Din punct de vedere numeric soiul Fetească Neagră a însumat doar 3 sușe selecționate aparținând speciilor *Hanseniaspora uvarum*, *Solicoccozyma aeria* respectiv *Rhodotorula glutinis*.

Concluzii privind caracterele morfologice ale tulpinilor izolate

- ❁ Coloniile tulpinilor izolate au prezentat profil convex și plat, suprafață lucioasă, mată și în unele cazuri aspect mucoid, colorațiile variind de la alb până la crem și portocaliu.
- ❁ Tulpinile speciei *Solicoccozyma aeria* au prezentat colorație de la alb până la crem-gri, suprafață mată iar la nivel micsocopic celulele au formă ovoid-elipsoidală.

- ❁ Specia *Hanseniaspora uvarum* a fost caracterizată prin colonii cu suprafața lucioasă și o colorație alb-crem. Privite la microscop, celulele levuriene au prezentat formă apiculată caracteristică genului.
- ❁ Tulpinile levurice ce au prezentat excepție de la colorația albă au fost cele din specia *Rhodotorula glutinis* fiind portocalii cu o suprafață lucioasă ușor mucilaginoasă.
- ❁ În concluzie tulpinile izolate în anii de experiență din Centrul viticol Copou Iași au prezentat diversitate atât din punct de vedere al caracteristicilor macro- cât și cele micromorfologice.

CONCLUSIONS

General conclusions regarding the results obtained within the research thesis

-  In the viticulture practice the basic links in order to obtain high-class wines are the grapes that must comply with quality standards both technologically and from the point of view of health and the selected yeasts from the vineyard`s wine microbiota that have the ability to reflect the personality and typicality of the wine-growing area.
-  In this research thesis, the obtained results bring significant contributions to the knowledge and identification of the influence of pedoclimatic and phytosanitary factors on the diversity and quality of the yeast microbiota within the studied viticultural area.
-  The administration of phytosanitary treatments in the studied years influenced the diversity and distribution of the microbiota in the soil and on the plants, recorded an negative influence for all grape varieties analyzed.
-  Also, the research activity brought to the fore remarkable information regarding the isolation and selection of some yeast strains from the indigenous microbiota in the pedoclimatic conditions specific to the Copou Iași vine Center.
-  The year 2022 recorded thermal and rainfall levels positive both for the growth and development of wine plantations and for increasing the diversity and distribution of yeasts.

Conclusions on phenological observations

-  The knowledge and analysis of the phenological stages of the vine presents an particular importance in technology because it provides information on the application of treatments to combat diseases and pests, fertilizers and certainly estimation of the quality and quantity of production.

- 🍇 Depending on the climatic variations between the two studied years, the analyzed grape varieties behaved differently, the initiation of the phenophases and the dynamics of the vine development being staggered.
- 🍇 The vegetation period, in the case of all studied grape varieties totaled more vegetations days in 2022 compared to 2021. The grape varieties analyzed presented a late flowering in the second year of the study, its evolution falling within an average of three days.
- 🍇 During the two years, the tested varieties presented a gap of approximately 10 days between the threshold of ripeness stage in 2021 and that of 2022. This gap remains approximately constant from the budding phenophase of 2021 and 2022 respectively until at the leverage and ripeness stage of the two years .
- 🍇 By analyzing the four grape varieties tested in each year of the study, they did not register significant differences in terms of the total number of days of vegetation average being 171 days in 2021 and 183 days in 2022.
- 🍇 By analyzing the dynamics of the evolution of the phenophases in 2022, we can conclude that all the grape varieties studied easily adapted to the difficult climatic conditions of the agricultural year marked by drought at the beginning of stages vegetation.

Conclusions regarding biometric measurements taken in the field

- 🍇 Regarding productivity level, a characteristic that is dependent on the size of the grapes, it turned out that Fetească Albă variety in the conditions of 2021-2022 presented the highest productivity index followed closely by Busuioacă de Bohotin variety. The minimum productivity threshold was reached by Fetească Neagră Colecție with an relative productivity average of only 76,5, being characterized by a smaller number of inflorescences per shoot.
- 🍇 The fertile shoots percentage in the grape varieties taken in the research remained in the same range with exception of the Fetească Neagră Colecție variety, which presented a low percentage (42,5%) compared to the other three grape varieties (approx. 75,5%), both in the first year and in the second year of study.
- 🍇 In the years 2021-2022, the studied grape varieties showed similar levels of shoot growth during the first measurement. The growth dynamics of the analyzed grape varieties in the period 01.06.2021-20.06.2021 Fetească Neagră and Fetească Neagră Colecție have registered more

intensive growth compared to the Busuioacă de Bohotin and Fetească Albă varieties.

- 🍇 In the case of the experimental varieties, the highest growth of the shoots, regardless of the year, was found to Fetească Neagră variety with an average of 104 cm, followed by Fetească Neagră Colecție, which summed up an average of 102 cm.
- 🍇 Both in the first year of the study and in the second year, during the three measurements, the growth rate remained constant to all grapes varieties taken into study.

Conclusions regarding the quantitative analysis of isolated yeasts

- 🍇 The phytosanitary treatment applied in the 5-7 cm shoot phenophase had a negative impact on yeast development, the yeast load in the soil in case of three sampling depths being lower compared to the one before the treatment in all grape tested varieties.
- 🍇 In the vertical division of the yeasts in the soil, it is found that the number of microorganisms shows a downward slope proportional to the sampling depth, thus it can be deduced that the constant decrease in the activity of the microbiota in the lower layers is characterized by the lack of oxygen, the decrease in the amount of nutrients and of course gradual alkalization of the soil.
- 🍇 Also, the variations regarding the microbial load between the four grape varieties in the different plant's development show us that the soil microbiota is dependent on the rhythm and dynamics of the development of each vine variety correlated with the level of soil quality and the climatic conditions of the year under study.
- 🍇 The reported differences between the experimental factors of the study (sampling depths, grape varieties, sampling phenophases) highlight the fact that the soil represents a rich and diverse microbial source. The yeasts number in a particular place is directly influenced by the amount of carbon and nutrients required for development.
- 🍇 Following the results expressed and correlated with the experimental factors, it was found that the yeast load in the soil of vineyard Copou Iași is influenced by the vertical spread of microorganisms, the grape variety, the phenophase of plant development and by the various treatments applied in vegetation to wine crops.
- 🍇 Regarding the development of the microbiota on the plants in the years under study, it was observed that the high temperatures in the summer

2022 and the shift of the phenophase by approximately two weeks compared to the previous year, determined a more pronounced development of the microbiota on the plants.

- ✿ If we compare the influence of the microbiota evolution in the soil during the two years of study on the yeast load of the plant, we can conclude that regardless of the variety taken in the study and the year of sampling, the number of microorganisms in the soil is directly proportional to the evolution and dynamics of yeast development on the vegetative organs of the plant namely inflorescences and grapes.
- ✿ Depending on the stage of vegetation and the source from which samples are taken, the microbial load can characterize the vineyard in terms of the quality and distribution of microorganisms both in the soil and on the plant.

Conclusions regarding isolated strains taxonomy

- ✿ Following the genomic processing, six yeast strains were identified that showed diversity both in terms of the grape varieties and the source, the phenophase and the year of isolation. The isolated strains belong to the genera *Solicoccozyma*, *Hanseniaspora*, *Rhodotorula*, *Filobasidium*, *Cystobasidium* and *Cryptococcus*.
- ✿ Analyzing the yeast material between the systematic units, the isolated species belong to two different subphylum: *Ascomycotina* with a single species representing 16,6% of the total and *Basidiomycotina* with five species with approximately 83,4 %.
- ✿ It should be mentioned that, following the isolation and identification analyses, all the strains confirmed the yeasts typicality of the vine area according to the studies carried out before the research thesis and all the identified species are already found in the microorganism collection of the "Ion Ionescu de la Brad" University of Life Sciences from Iași.
- ✿ The largest share is held by the species *Solicoccozyma aeria* with 47,22 % of the total, being found in all sampling phenophases both in soil and on plants regardless of the study year.
- ✿ The species *Rhodotorula glutinis* accumulated a number of five isolated strains both from the soil in the phenophase of full maturity and on the inflorescences and grapes and the species *Filobasidium floriforme* had a percentage of 11,7% of the total selected species found both in the soil and on grapes at their ripeness

- ✿ The species *Cystobasidium pinicola* and *Cryptococcus aeris* were found in the lowest percentage in the vineyard area studied. While the species of the genus *Cryptococcus* was present in the soil at the depth of 15-20 cm in the shoot phenophase 5-7 cm, the species *Cystobasidium pinicola* was found at the end of flowering on the inflorescences.
- ✿ It should also be mentioned that all the species found in the surface layer of the soil, were also found on the vegetative organs of the plants. This confirms the results from the sresearch literature according to which the yeasts present on grapes come from the superficial layers of the soil during the vegetation period under the action of vectors (insects, climatic conditions, etc.)
- ✿ The only species that was found only in the soil at a depth of 15-20 cm and was not found in the samples collected from plants was *Cryptococcus aeris* and the species *Cystobasidium pinicola* could not be detected in the soil but was present on the inflorescences at the end of flowering.
- ✿ Comparing the studied years, the second year presented a diversity both of the number of species found and of their distribution in the soil and on plants. A uniform distribution of species on plant and soil is observed in 2022, something that is not found in 2021.
- ✿ Comparing the four studied varieties, almost all species were found at Busuioaca de Bohotin, the only species that was not found in this variety being *Cystobasidium pinicola*. As for the species *Solicoccozyma aeria*, it was found in all varieties reaching the maximum threshold of isolated strains.
- ✿ Although not all six species were identified at Fetească Neagră Colecție, this variety presented the highest distribution of microbiota both in soil and on plants during the phenological process of the vine. The Fetească Neagră variety summed up only three selected strains belonging to the species *Hanseniaspora uvarum*, *Solicoccozyma aeria* and *Rhodotorula glutinis*.

Conclusions regarding the morphological characters of the isolated strains

- ✿ Colonies of the isolated strains showed convex and flat profile, glossy, matte surface and in some cases mucoid appearance, colors ranging from white to cream and orange.
- ✿ The strains of the species *Solicoccozyma aeria* showed a coloration from white to cream-gray, matte surface, and microscopically, the cells have an ovoid-ellipsoidal shape.

- ✿ The species *Hanseniaspora uvarum* was characterized by colonies with a glossy surface and a cream-white coloration. Viewed under a microscope, the yeast cells showed the characteristic apiculate shape of the genus.
- ✿ The yeast strains that showed an exception to the white coloration were those from the *Rhodotorula glutinis* species, being orange with a slightly mucilaginous glossy surface.
- ✿ In conclusion, the strains isolated during the years of experience from the vineyard Iași presented diversity both in terms of macro- and micromorphological characteristics.

BIBLIOGRAFIE

1. Aigle M., Erbs D., Moll M., 1984, *Some molecular structure in the genome of lager brewing yeast*, Am. Soc. Brew. Chem (42), p. 1–7
2. Alexandru T. și colab., 2011, *Microbiologia Alimentelor*, Ed. Asclepius, București.
3. Alexander M., 1977, *Microbial ecology*, What for science, what for society, Springer Verlag, Berlin. 1977. – p. 2-6.
4. Altschul S.F., Madden T.L., Schaffer A.A., Zhang J., Zhang Z., Miller W., Lipman D.J., 1997, *Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs*. Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402.
5. Ancuța V., 2009, *Optimizarea tehnologiei de producere a vinurilor albe în podgoria Iași prin utilizarea unor levuri selecționate din flora indigenă*, Iași
6. Andrei Siuris, colab., 2018, *Provisional technology of capitalization of liquid wine yeasts as fertilizers for grapevines*, vol. 6(1)2018
7. Anghel I. și colab., 1989, *Biologia și tehnologia drojdiilor*, vol. 1, Editura Tehnică, București
8. Anghel I. și colab., 1991, *Biologia și tehnologia drojdiilor*, vol. 2, Editura Tehnică, București
9. Anghel I. și colab., 1993, *Biologia și tehnologia drojdiilor*, vol. 3, Editura Tehnică, București
10. Apostu S., 2009, *Microbiologia produselor alimentare*, Ed. Risoprint, București.
11. Ardelean I.I., 2012, *Microbiologie generală* volumul 2, Ed. Ars Docendi.

12. Baicu T., Săvescu A., 1996, *Combaterea integrată în protecția plantelor*, Editura Ceres, București
13. Baleiras M., Couto T., Reizinho R., Duarte F., 2005, *Partial 26S rDNA restriction analysis as a tool to characterize non-Saccharomyces yeasts present during red wine fermentations*, International Journal of Food Microbiology 102, p. 49– 56
14. Barrera Cardenas S. M., 2010, *Sparkling wine production by champenoise method in Lombardy region: yeast population biodiversity and technological aspects of indigenous Saccharomyces cerevisiae as potential starters*, Universita degli Studi di Milano - (teză doctorat)
15. Barnett J.A. 1992, *The taxonomy of the genus Saccharomyces Meyen ex Reess: a short review for nontaxonomists*. Yeast (8), p. 1–23
16. Bayraktar V. N., 2014, *Biodiversity of yeast cultures isolated from littoral areas of the regional landscape park „Tiligulskiy”*, Ecosisteme, optimizarea și protecția lor, nr.10, p.21-29
17. Bedriñana R., Simón A., Suárez Valles B., 2009, *Genetic and phenotypic diversity of autochthonous cider yeasts in a cellar from Asturias*, Food Microbiology, Vol. 27, p. 503-508
18. Beltran G., Rozès N., Mas A., Guillamón J., 2007, *Effect of low-temperature fermentation on yeast nitrogen metabolism*, World Journal of Microbiology and Biotechnology (6), p. 809-815
19. Belloch C., Barrio E., Garcia M., Querol A., 1998, *Phylogenetic reconstruction of the genus Kluyveromyces : restriction map analysis of the 5.8s rRNA gene and the two ribosomal internal transcribed spacers*, Syst Appl Microbio (121), p. 266-273
20. Benito S., 2020, *Combined use of Lachancea thermotolerans and Schizosaccharomyces pombe in Winemaking – review*, University of Madrid
21. Benito S. et al., 2023, *Influence of different Lachancea thermotolerans strains in the wine profile in the era of climate challenge*, FEMS Yeast Research, Volume (23)/2023

22. Blanco P., Ramilo A., Cerdeira M., Orriols I., 2006, *Genetic diversity of wine Saccharomyces cerevisiae strains in an experimental winery from Galicia (NW Spain)*, Antonie van Leeuwenhoek (89), p. 351–357
23. Bobeș I., 1990, *Atlas de fitopatologie protecția agroecosistemelor*, Editura Ceres, Cluj
24. Botha A., 2011, *The importance and ecology of yeasts in soil*, Soil Biology & Biochemistry (43), p. 1-8
25. Boulton R., Singleton V., Bisson L., Kunkel R., 1996, *Yeast and Biochemistry of Ethanol Fermentation. In Principles and practices of winemaking*, New York, Chapman and hall eds., p 120-145
26. Bărzoi D., Apostu S., 2002, *Microbiologia produselor alimentare*. Ed. Risoprint, pp 30-75, Cluj-Napoca.
27. Boulton R. B., Singleton V.L., Bisson L.F. et al., 1996, *Principles and Practices of Winemaking*, Chapman and Hall, New York, p. 60
28. Cai J., Roberts N., Collins M., 1996, *Phylogenetic relationships among members of the ascomycetous yeast genera Brettanomyces, Debaryomyces, Dekkera and Kluyveromyces deduced by small-subunit rRNA gene sequence*,. Int J Syst Bacteriol (46), 542-549
29. Cameron J., Loh E., Davis R., 1979, *Evidence for transposition of dispersed repetitive DNA families in yeast*, Cell (16), p.739–751
30. Campos A.C., Etchevers J.B., Oleschko K.L., Hidalgo C.M., 2014 *Soil microbial biomass and nitrogen mineralization rates along an altitudinal gradient on the Cofre de Perote Volcano (Mexico): the importance of landscape position and land use*, Land Degradation & Development, 6:581-593
31. Capece A., Romaniello R., Siesto G., Pietrafesa R., Massari C., Poeta C., Romano P., 2010, *Selection of indigenous Saccharomyces cerevisiae strains for Nero d'Avola wine and evaluation of selected starter implantation in pilot fermentation*, International Journal of FoodMicrobiology (144), p. 187-192

32. Carmona M., Cubas P., Calonje M., Martinez-Zapater J.M., 2007, *Flowering transition in grapevine (Vitis vinifera L.)*, Canadian Journal of Botany (85), p. 701–711
33. Cebollero E., Carrascosa A.V., Gonzalez R., 2005, *Evidence for yeast autophagy during simulation for sparkling wine aging: a reappraisal of the mechanism of yeast autolysis in wine*, Biotechnol Prog (21), p. 614–616.
34. Ciani M. Role, 1997, *Oenological properties and potential use of non – Saccharomyces wine yeast*. Recent Res. Dev. Microbiol., Nr.1, p. 317-331.
35. Cotea, V., 1982. *Oenologie*, Editura Didactică și Pedagogică, București.
36. Creasy, G. L., 2009. *Crop Production Science in Horticulture*, Volume 16 : Grapes. Wallingford, Oxon, GBR: CABI Publishing, p 117.
37. Dan V., 2000, *Microbiologia produselor alimentare* vol. II, Ed. Alma, Galați.
38. Meletiadiis J., Dannaoui E., Mouton J.W., Meis J., Verweij P.E., 2003, *In vitro susceptibilities of zygomycetes to conventional and new antifungals*, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Volume 51, p. 45–52
39. Degre R., Thomas D.Y., Ash J., *et al.*, 1989, *Wine yeast strain identification.*, Am. J. Enol. Vitic., Nr.40, p. 309-315.
40. Dejeu L.C., Georgescu M., 2005, *Taierea si conducerea vitei de vie*, Editura: Ceres
41. Delfini C., 1995, *Scienza e tecnica di microbiologia enologica*, Editura Il Lievito, Asti, Italia
42. Demuyte C., Lollier M., Legras J.-L., Le Jeune C., 2004, *Predominance of Saccharomyces uvarum during spontaneous alcoholic fermentation, for three consecutive years, in an Alsatian winery*, Journal of Applied Microbiology, Vol.97, p. 1140-1148

43. Dobrei A., Rotaru L., Morelli S., 2008, *Ampelografie*, Editura Solness, Timișoara
44. Dobrei A., Rotaru L., Mustea M., 2005, *Cultura vitei de vie*. Editura Solness, Timișoara
45. Dumbrell A.J., Nelson M., Helgason T., Dytham C., Fitter A.H., 2010, *Relative roles of niche and neutral processes in structuring a soil microbial community*, The ISME journal (3), p. 337-345
46. Dumitru, M., 1999, *Utilizarea culturilor selecționate de drojdii în vinificație*, Teză de doctorat, Universitatea din Galați
47. Egli C.M., Edinger W.D., Mittrakul C.M., Henick, Kling T, 1998, *Dynamics indigenous and inoculated yeast populations and their effect on the sensory character of Riesling and Chardonnay wines*, J. Appl. Microbiol, Nr. 85, p. 779-789
48. Eliade, G., Ghinea, L., Ștefanic, G., 1975, *Microbiologia solului*, Ed. Ceres, București
49. Esteve-Zarzoso B., Gostincar A., Bobet R., Uruburu F., Querol A., 2000, *Selection and molecular characterization of wine yeasts isolated from the El Penedes area (Spain)*, Food Microbiology, Vol. 17, p. 553-562
50. Fabiola N., Giarola B., Pires da Silva A., Imhoff S., Dexter A.R., 2002, *Contribution of natural soil compaction on hardsetting behavior*, Geoderma Volume 113, p. 95-108
51. Filipescu C., Georgescu T., Tălmăciu M., 1993 – *Entomologie agricolă*, vol. II, *Partea specială și tehnologii de combatere*, Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară Iași
52. Fleet G.H., Heard G.M., 1993, *Yeast growth during Fermentation*, Wine Microbiology and Biotechnology Harwood Academic Publishers, Switzerland , p. 27-55.
53. Fleet G.H., 2003, *Yeast interactions and wine flavour*, Int. J. Food Microbiol. 86, 11-22.

54. Fleet G.H., Prakitchaiwattana C., Beh A.L., Heard G.M., 2002, *The yeast ecology of wine grapes*, Ciani, M. (Ed.), Biodiversity and Biotechnology of Wine Yeasts. Research Signpost, Kerala, India, pp. 1-17.
55. Florian V., 2000 , *Fitopatologie generală*, Tipo Agronomia
56. Friedl A., Kiechle M., Maxeiner H., Schiestl R., Eckardt-Schupp F., 2010, *Ty1 integrase overexpression leads to integration of non-Ty1 DNA fragments into the genome of Saccharomyces cerevisiae*, Mol Genet Genomics (4), p. 31-42
57. Galet P., 1991, *Precis d'ampelographie pratique*, Imp. Charles Dehan.Montpellier
58. Gargouri A., 1989, *A rapid and simple method for extraction yeast mitochondrial DNA*, Curr. Genet (15), p. 235-237
59. Giudici P., Pulvirenti A., 2002, *Molecular methods for the identification of wine yeasts. In Biodiversity and Biotechnology of Wine Yeasts*, ed., Ciani M, p. 35-52
60. Giudici P., Caggia C., Pulvirenti A., Zambonelli C., Rainieri S., 1998, *Electrophoretic profile of hybrids between cryotolerant and non-cryotolerant Saccharomyces strains*, Lett. Appl. Microbiol (27), p. 31-34
61. Giudici P, Zambonelli C, 1992, *Criteri di selezione dei lieviti per enologia*, Vignevini 9: 29-34
62. Graham H., 1993. *Wine microbiology and biotechnology*, Ed. Harwood Academic Publishers, Switzerland.
63. Guerra E., Mannazzu I., Sordi G. et al, 1999, *Characterization of indigenous Saccharomyces cerevisiae from the Italian region of Marche: hunting for new strains for local wine quality improvement*, Ann. Microbiol. Enzymol., Nr.49, p. 79-88
64. Guillaumon J., Sabate J., Barrio E., Cano J., Querol A., 1998, *Rapid identification of wine yeast species based on RFLP analysis of the ribosomal ITS regions*, Arch Microbiol (169), p. 387- 392

65. Guillaumon J.M., Barrio E., Querol A., 1996, *Characterization of wine yeast strains of the Saccharomyces genus on the basis of molecular markers: relationships between genetic distance and geographic or ecological origin*, Syst Appl Microbiol (19), p. 122–132
66. Guillaumon J., Barrio E., Huerta T., Querol A., 1994, *Rapid characterization of four species of the Saccharomyces sensu stricto complex according to mitochondrial DNA patterns*, Int. J. Syst. Bacteriol (44), p. 708-714
67. Hansen J and Kielland-Brandt M, 1994, *Saccharomyces carlsbergensis* contains two functional *MET2* alleles similar to homologues from *S. cerevisiae* and *S. monacensis*. Gene 140:33–40
68. Hatman M., 1989 - *Fitopatologie*. Ed. Didactică și Pedagogică, București.
69. Heard G.M., Fleet G.H., 1985, *Growth of natural yeast flora during fermentation of inoculated wines*, Appl. Environ. Microbiol. , Nr.50, p. 727-728
70. Hinrikson H.P., Hurst S.F, Aguirre L., Morrison C.J., 2005, *Molecular methods for the identification of Aspergillus species*, Medical Mycology, Volume 43, Issue Supplement_1, January 2005, Pages S129–S137
71. Iacob C., et al., 2016, *The influence of PDA, TA and V8 culture media on the development of Phytophthora Infestans de Bary. and Phytophthora Parasitica Dast*, vol. 59 (1)2016, seria Agronomia
72. Iacob Viorica, 2003 – *Fitopatologie*, Editura „Ion Ionescu de la Brad”, Iași.
73. Irimia L.M., 2013, *Biologia, ecologia și fiziologia viței de vie*, Ed. “Ion Ionescu de la Brad” Iasi, 260 pag.
74. Irimia L.M., 2013, *Controlul și expertiza calității legumelor, fructelor și produselor derivate*, Ed. “Ion Ionescu de la Brad” Iasi, 260 pag.
75. Irimia L., Patriche C., Planchon O., Querol H., 2014, *Vague de froid européenne de février 2012 et impacts dans les vignobles de*

Cotnari(Roumanie). In *Changement climatique et terroirs viticoles*, Franța, 460 pag., ISBN 9782743015756

76. Iwen P. C., Hinrichs S. H., Rupp M. E., 2002, *Utilization of the internal transcribed spacer regions as molecular targets to detect and identify human fungal pathogens*, Medical Mycology, Volume 40, p. 87–109
77. Kassemeyer, H. H.; staudt, G., 1982, *Cytologische Untersuchungen über die Ursachen des Verrieseins bei Vitis*, Vitis 21, 121-135
78. Kielland-Brandt M., Nilsson-Tillgren T., Gjermansen C., Holmberg S., Pedersen M., 1995, *Genetics of brewing yeasts*, The yeasts, ed. Academic Press London, England , p. 223–254
79. Klich, M.A., 2002, *Identification of Common Aspergillus Species*, Centraal bureau voor Schim, Utrecht
80. Kunkee R., Bisson, L., 1993, *Winemaking yeasts*, The Yeasts, ed. Academic Press, London, p .69-127
81. Kurtzman C.P., Fell J.W., 1998, *The Yeasts: A Taxonomic Study*, Elsevier Science, Amsterdam, p. 77-100
82. Lazăr V. Și colab., 2004. Microbiologie generală. Ed. Univ. Bucuresti.
83. Legras J, Karst F, 2002, *Optimisation of interdelta analysis for Saccharomyces cerevisiae strain characterisation*, FEMS Microbiology Letters 22, p. 249-255
84. Leonte, M., 2000. *Vinul-aliment, tonic, medicament*, Editura Pax Aura Mundi, Galați.
85. Lipșa F., Ulea E., 2017, *Assesment of yeast diversity in different soil types under various management regimes in Moldavia Region*, Revista Lucrări științifice USAMV Iași Romania, vol. 60 (2)2017, seria Agronomie
86. Lipșa F., colab., 2013, *Contributions regarding some oenological yeast strains isolated from vineyard Iași, Romania*, vol. 56(1)2013, seria Agronomie

87. Lopez-Pineiro A., Munoz A., Zamora E., Ramirez M., 2013, *Influence of the management regime and phenological state of the vines on the physicochemical properties and the seasonal fluctuations of the microorganisms in a vineyard soil under semi-arid conditions*, Soil Tillage Res 126, p. 119–126
88. Lovell, R.D., Jarvis, S.C., Bardgett, R.D., 1995, *Soil microbial biomass and activity in long-term grassland: effects of management changes*, Soil Biology & Biochemistry 27, p. 969-975.
89. Măzăreanu C., 1999. *Microbiologie generală*, Ed. Alma Mater, Bacău.
90. Martinez P., Codon A.C., Perez L., Benitez T., 1995, *Physiological and molecular characterization of flor yeasts: polymorphism of flor yeast populations*, Yeast (11), p. 1399–1411
91. Martini A., 1993, *Origin and domestication of the wine yeast Saccharomyces cerevisiae*, J Wine Res (4), p. 165–176
92. Melero R., 1992, *Fermentación controlada y selección de levaduras vínicas*, Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Alim., Nr.32, p. 371-379.
93. Mihai C., 2009, *Controlul integrat al bolilor viței de vie prin metode convenționale și neconvenționale în contextul agriculturii durabile și impactul asupra calității producției în Centrul Viticol Blaj*, Cluj Napoca – teză doctorat.
94. Milanovic V. ,2011, *Study of microbial diversity and yeast interactions using molecular methods*, Dissertation thesises, Polytechnic University delle Marche. The Faculty of Life Science, 228 p
95. Molina F., Inoue I., Jong S., 1992, *Ribosomal DNA restriction analysis reveals genetic heterogeneity in Saccharomyces cerevisiae Meyen ex Hansen*, Int J Syst Bacteriol (42), p. 499-502
96. Morgulis A., Coulouris G., Raytselis Y., Madden T.L., Agarwala R., Schaffer A. A., 2008, *Database Indexing for Production MegaBLAST Searches*, Bioinformatics 24, p. 1757-1764

97. Mullins M. G., Bouquet A., Williams, L.E., 1992, *Biology of the Grapevine*, Fruit Growth and its Regulation. Cambridge University Press, Cambridge.
98. Muscă, M., 1980, *Tehnologia produselor alimentare*, Universitatea din Galați
99. Musteață G., Gherciu L., Taran N., Antohi M., Soldatenco E., Adajuc V., 2008, *Studiul influenței sușelor de levuri asupra caracteristicilor fizico-chimici și indicii specifici a vinurilor roze*, Realizări inovative în domeniul viti-vinicol. Ed. Specială a Conf. Intern. Consacrate m.c. AȘM Petru Ungureanu, p. 181-185.
100. Nastasia Pop, 2010, *Curs de viticultură generală*, editura Eikon
101. Naumov G., James S., Naumova E., Louis E., Roberts I., 2000., *Three new species in the Saccharomyces sensu stricto complex: Saccharomyces cariocanus, Saccharomyces kudriavzevii and Saccharomyces mikatae*. Int J Syst Evol Microbiol (50), p. 1931–1942
102. Naumov G., 1996, *Genetic identification of biological species in the Saccharomyces sensu stricto complex*, J Ind Microbiol Biotechnol (17), p. 295–302
103. Neacșu I. și colab., 2012. *Oenologie*. Editura Academiei Române, București
104. Nechita A., et al., 2014, *Noi sușe de levuri cu caracter alcooligen ridicat izolate din flora indigenă a podgoriei Iași*, Revista Lucrări științifice USAMV Iași - Seria Vol. 57 (1)2014, seria Horticultură
105. Nechita A., et al., 2020, *Oenological characterization of some yeast strains isolated from the Iași vineyard Romania*, Romanian Journal Horticulture, Vol 1/2020, p.141-148
106. Ness F., Lavalle F., Dubourdieu D., Aigle M., Dulau L., 1993, *Identification of yeast strains using the polymerase chain reaction*, Journal Sci Food Agric (62), p. 89–94

107. Nicolau A., Turtoi. M., 2006. *Microbiologie generală. Factori care influențează dezvoltarea microorganismelor*, Ed. Academica, Galați
108. OIV, 2021, State of the World Vitivinicultural sector in 2020
109. OIV, 2022, State of the World Vitivinicultural sector in 2021
110. OIV, 2023, State of the World Vitivinicultural sector in 2022
111. Pârvu C., 2006. *Universul plantelor*, Ed. ASAB, București
112. Parish M., Carroll D., 1987, *Fermentation characteristics of Saccharomyces cerevisiae isolated from Vitis rotundifolia grapes and musts*, Am. J. Enol. Vitic (38), p. 45-48
113. Pearson, H.M., 1932, *Parthenocarpy and seed abortion in Vitis vinifera*, Proc. Amer. Soc. Horticult. Sei. (29), 169-175
114. Peddie H., 1990, *Ester formation in brewery fermentation*, J.Inst.Brew (96), p. 327-331
115. Pedersen M., 1986, *DNA sequence polymorphism in the genus Saccharomyces. IV. Homologous chromosomes III in Saccharomyces bayanus, S. carlsbergensis and S. uvarum*, Carlsberg Res. Commun (51)185-202
116. Perez – Coello M. S., Briones Perez A.I. et al., 1999, *Characteristics of wines fermented with different Saccharomyces cerevisiae strains isolated from the La Mancha region*, Food Microbiology, Nr.16, p. 563-573
117. Piskur J., Smole S., Groth C., Petersen R.F., Pedersen M.B., 1998, *Structure and genetic stability of mitochondrial genomes vary among yeasts of the genus Saccharomyces*, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, Vol. 48
118. Pretorius I., 2000, *Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking*, Yeast (16), p. 675–729

119. Pretorius I., Van der Westhuizen T., Augustyn O., 1999, *Yeast biodiversity in vineyards and wineries and its importance to the South African wine industry*, S Afr J Enol Vitic (20), p. 61-74
120. Pretorius I., Westhuizen T., 1991, *The impact yeast genetics and recombinant DNA technology on the wine industry – a review*, S Afr J Enol Vitic (12), p. 3-31
121. Popa A., Popa Daniela, Dargomir Felicia, 2004, - *Microbiologie oenologică*, Editura Universitaria, Craiova
122. Popa A., Teodorescu Ș., 1990, - *Microbiologia vinului*, Editura Ceres, București
123. Pușcă I.M., 2010. *Soiuri de struguri*, Ed. Ceres, București.
124. Querol A., Barrio E., Huerta T., Ramon D., 1992, *Dry yeast strain for use in fermentation of Alicante wine: selection and DNA patterns*, J. Food Sci., Nr. 57, p. 183-185
125. Radler F., 1993, *Yeast-metabolism of organic acids*, Wine Microbiology and Biotechnology. Harwood Academic Publishers, Switzerland, p. 165-182
126. Rainieri S., Pretorius I.S., 2000, *Selection and improvement of wine yeasts*, Annals of Microbiology, Nr. 50, p. 15-30
127. Rapp A., Versini G., 1991, *Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wines*, Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and wine, Am. Soc. Enol.Vitic (323), p. 156-16
128. Raspor R., Milek D.M., Polanc J., Mozina S.S., Cadez N., 2006, *Yeasts isolated from three varieties of grapes cultivated in different locations of the Dolenjska vine – growing region, Slovenia*, Int J Food Microbiol., 109 (1-2), p. 97-102
129. Redagon A.J., Perez F., Valades M.E. et al. 1997, *A simple and effective procedure for selection of wine yeast strains*. Food Microbiology, Nr. 14, p. 247-254.

130. Ribereau – Gayon P., 1985, *New developments in wine microbiology*, Am. J. Enol. Vitic., Nr.36, p. 1-10.
131. Romancino D.P., Muriella R., Di Maio S., Oliva D., 2008, *Analysis of non-Saccharomyces yeast populations isolated from grape musts from Sicily (Italy)*, Journal of Applied Microbiology, 105(6), p. 48-54
132. Rodrigues A., et al., 2013, *Effect of winery yeast lees on Touriga Nacional Red wine color and tannin evolution*, American Journal of Enology and Viticulture
133. Sabate J., Cano J., Esteve-Zarzoso B., Guillamon J., 2002, *Isolation and identification of yeasts associated with vineyard and winery by RFLP analysis of ribosomal genes and mitochondrial DNA*, Microbiol Res (157), p. 267–264
134. Salo P., 1970, *Determining the odor thresholds for some compounds in alcoholic beverages*. J. Food Sci (35), p. 95-99
135. Sapis-Domercq S., 1980, *Etude de l'influence des produits de traitement de la vigne sur la microflore des raisins et des vins*, Universite de Bordeaux
136. Sarathchandra, S.U., Perrott, K.W., Boase, M.R., Waller, J.E., 1988, *Seasonal changes and the effects of fertiliser on some chemical, biochemical and microbiological characteristics of high-producing pastoral soil*, Biology and Fertility of Soils 6, p. 328-335
137. Scarr P. M., Rose D., 1966, *Study of Osmophilic yeasts producing invertase*, J. gen. Microzol., 45, 9-16
138. Schinner F., Ohlinger R., 1995, *Methods on Soil Biology*, Springer Verlag, Berlin, P. 1-426
139. Schuller D., Pereira L., Alves H., Cambon B, Dequin S., Casal M., 2007, *Yeast Genetic characterization of commercial Saccharomyces cerevisiae isolates recovered from vineyard environments*, Yeast (24), p. 625–636

140. Schuller D., Valero E., Dequin S., Casal M., 2004, *Survey of molecular methods for the typing of wine yeast strains*. FEMS Microbiol Lett (231), p.19–26
141. Severin V., Dejeu L., 1994 – *Bolile și dăunătorii viței de vie: prevenire și combatere*, Editura Ceres, București.
142. Siuris A., et al., 2018, *Provisional technology of capitalization of liquid wine yeasts as fertilizers for grapevines*, Seria Agronomie, vol. 6(1)2018, p.135-138
143. Slavikova E., Vadkertiova R., 2003 , *The diversity of yeasts in the agricultural soils*, Journal of Basic Microbiology 43: 403-436
144. Sokal R., Michener C., 1958, *A statistical method for evaluating systematic relationships*, University of Kansas Science Bulletin. 38: 1409–1438.
145. Soldatenco O., 2019, *Studiul comparativ al diferitelor metode de identificare taxonomică a tulpinilor de levuri izolate din Centrul vitivinicol Purcari*, Pomicultura, Viticultura și Vinificația, nr.3-4
146. Soles R., Ough C., Kunkee R., 1982, *Ester concentration differences in wine fermented by various species and strains of yeast*, Am.J. Enol Vitic (33), p. 94-98
147. Staudt G., Schneider W., Leidel J, 1986, *Phases of berry growth in Vitis vinifera*, Annals of Botany (58), p. 789-800
148. Tănase C., 2002. *Microbiologie*, Ed. Universității "Alexandru Ioan Cuza" Iași.
149. Taran N., Soldatenco E., Antohi M., 1998, *Selecciónarea și studierea sușelor de levuri destinate producerii vinurilor spumante naturale*, Pomicultura, Viticultura și Vinificația în Moldova, nr. 4, p. 16-19
150. Tălmăciu M., 2017, *Dăunătorii plantelor cultivate de la A la Z*, Editura Ion Ionescu de la Brad, Iași

151. Tălmăciu M., 2005 , *Entomologie agricolă*, Editura Ion Ionescu de la Brad, Iași
152. Taran N., colab., 2016, *Tulpini de levuri autohtone degenul Saccharomyces pentru producerea vinurilor*, Akademos, (4)/2016
153. Tofan C., Bahrim G., 2002. *Microbiologie alimentară – Tehnici și analize de laborator*, Ed. Agir, București.
154. Tomoioga Loliana, 2013 – *Ghidul fitosanitar al viticultorului*, Editura AcademicPres, Cluj-Napoca
155. Triolo Roberta, Roby J.Ph., Plaia Antonella, Hilbert G., Buscemi Simona, Di Lorenzo R., van Leeuwen C., 2018, *Hierarchy of Factors Impacting Grape Berry Mass: Separation of Direct and Indirect Effects on Major Berry Metabolites*, American Journal of Enology and Viticulture, vol. 69, nr. 2, p. 103-112.
156. Turenne C., Sanche S., Hoban D.J., Karlowick J.A., Kabani A.M., 2000, *Rapid Identification of Fungi by Using the ITS2 Genetic Region and an Automated Fluorescent Capillary Electrophoresis System*, Journal of clinical Microbiology, 37(6), p. 1846-1851
157. Ulea E., 2003, *Fitopatologie*, Editura. „Ion Ionescu de la Brad”, Iași.
158. Ulea E., 2012, *Fitopatologie specială*, suport de curs.
159. Valente P., Gouveia F., De Lemos G., Pimentel D., Van Elsas J., Mendoga-Hagler L., Hagler A., 1996, *PCR amplification of the rDNA Internal Transcribed Spacer region for differentiation of Saccharomyces cultures*, FEMS Microbiol Lett (137), p. 253-256
160. Van Rooyen P., De Wet P., Van Wyk C., Tromp A., 1982, *Chenin Blanc wine volatiles and the intensity of a guava-like flavor*, S. Afr. J. Enol. Vitic. (3), p. 1-7
161. Vararu F. colab., 2014, *Compuși majoritari de aroma și culoarea vinurilor Aligote în funcție de sușele de levuri utilizate*, Revista Lucrări științifice USAMV Iași - Seria Vol. 57 (1)2014, seria Horticultură

162. Vaughan-Martini A., Martini A., 1993, *A taxonomic key for the Genus Saccharomyces*, Systematic and Applied Microbiology, Vol. 16, p. 113-119
163. Vincenzini M., Romano P., Farris G., 2005, *Microbiologia del vino. Ambrosiana*
164. Vishniac H.S., 2006, *A multivariate analysis of soil yeasts isolated from a latitudinal gradient*, Microbial Ecology 52: 90-103
165. White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J, 1990, *Amplification and direct sequencing of fungi ribosomal RNA genes for phylogenetics*, PCR – Protocols and Applications – A Laboratory Manual, 315-322, Academic Press
166. Wood, M., 1989, *Soil Biology*, Blackie and Son et al, London a Saint-Amand.C.
167. Yevdokimov, I., Gatteringer, A., Buegger, F., Munch, J.C., Schlöter, M., 2008, *Changes in microbial community structure in soil as a result of different amounts of nitrogen fertilization*, Biol Fertil Soils 44, p. 1103–1106.
168. Yurkov A.M., Kemler M., Begerow D., 2012, *Assessment of yeast diversity in soils under different management regimes*, Fungal Ecol 5:24–35
169. Zarnea G., 1994, *Tratat de microbiologie generală*, Editura Academiei Române, p. 1-757.
170. Zheng Z., Schwartz S., Wagner L., and Miller W., 2000, *A greedy algorithm for aligning DNA sequences*, J Comput Biol, 7(1-2), p. 203-214.
171. www.faostat.fao.org
172. <http://www.agroatlas.ru/>

ANEXE

Anexa nr. 1

LISTA TABELELOR

Tabel 2.1 Compoziția chimică a strugurilor – valori exprimate în % din greutatea proaspătă	37
Tabel 2.2 Gruparea soiurilor de struguri în funcție de soiul reper Chasselas ...	39
Tabel 2.3 Clasificarea soiurilor de struguri în funcție de perioada de maturare a soiului Chasselas doré.....	40
Tabel 5.1 Temperaturile înregistrate în perioada de cercetare (2021-2022)	58
Tabel 5.2 Precipitațiile înregistrate în perioada de cercetare (2021-2022)	60
Tabel 6.1 Principalele însușiri tehnologice ale soiurilor luate în studiu	66
Tabel 6.2 Protocol de prelevare probe de sol și de pe plante	67
Tabel 6.3 Suprafața pentru soiurile luate în studiu	69
Tabel 6.4 Produsele fitosanitare utilizate în plantațiile viticole în anii 2021-2022 în Ferma Didactică „Vasile Adamachi” Iași	72
Tabel 6.5 Schemă tehnologică de aplicare a tratamentelor fitosanitare în condițiile Fermei didactice „Vasile Adamachi” Iași în anii 2021-2022.....	75
Tabel 6.6 Distribuția diluțiilor pe soiuri și surse de prelevare	83
Tabel 6.7 Componentele amestecului de reacție.....	89
Tabel 7.1 Durata fenofazelor în cei doi ani de studiu	92
Tabel 7.2 Momentele principalelor fenofaze ale soiurilor luate în studiu	93
Tabel 7.3 Fertilitatea și productivitatea soiurilor de struguri luate în studiu (2021-2022)	95

Tabel 8.1 Influența factorilor experimentali asupra încărcăturii levuriene din sol, în anul 2021.....	99
Tabel 8.2 Influența factorilor experimentali asupra încărcăturii levuriene din sol, în anul 2022.....	101
Tabel 8.3 Influența factorilor de experiență asupra dinamicii încărcăturii levuriene în anii de studiu	103
Tabel 8.4 Încărcătura levuriană în cazul probelor prelevate de pe plante, în anul 2021	106
Tabel 8.5 Încărcătura levuriană în cazul probelor prelevate de pe plante în anul 2022	108
Tabel 9.1 Împărțirea speciilor de levuri izolate pe unități sistematice.....	113
Tabel 9.2 Levuri izolate din microflora indigenă a centrului viticol Copou , în diverse fenofaze în anii 2021-2022	114
Tabel 9.3 Repartizarea sușelor levuriene selecționate în funcție de sursa de izolare	115
Tabel 9.4 Matricea simetrică conform coeficientului Jaccard (% similitudine) între cele 6 tulpini izolate din condițiile Centrului Viticol Copou Iași	121
Tabel 9.5 Caracteristicile morfologice ale coloniilor levurilor izolate în anul 2021	123
Tabel 9.6 Caracteristicile morfologice ale coloniilor levurilor izolate în anul 2022	128

LIST OF TABLES

Table 2.1 Chemical composition of grapes –% of fresh weight	37
Table 2.2 Grouping of grape varieties according to the benchmark variety Chasselas.....	39
Table 2.3 Classification of grape varieties according to the ripening period of the Chasselas doré variety.....	40
Table 5.1 Temperatures recorded during the research period (2021-2022).....	58
Table 5.2 Rainfall recorded during the research period (2021-2022).....	60
Table 6.1 The main technological characteristics of the studied varieties.....	66
Table 6.2 Soil and plant sampling protocol	67
Table 6.3 Cultivated area for studied grape varieties.....	69
Table 6.4 Phytosanitary products used in the vineyards in 2021-2022 in the Didactic Farm "Vasile Adamachi" Iasi	72
Table 6.5 Technological scheme for the application of phytosanitary treatments under the conditions of the research farm "Vasile Adamachi" Iași in the years 2021-2022	75
Table 6.6 Distribution of dilutions by varieties and sampling sources	83
Table 6.7 The reaction mixture components.....	89
Table 7.1 The phenophases therm during the two years of study	92
Table 7.2 The main phenophases moments of the studied varieties	93
Table 7.3 Fertility and productivity of the grape varieties studied (2021-2022).....	95
Table 8.1 The influence of experimental factors on the yeast load in the soil, in the year 2021.....	99
Table 8.2 The influence of experimental factors on the yeast load in the soil, in the year 2022.....	101

Table 8.3 The influence of experience factors on the dynamics of yeast load during the study years	103
Table 8.4 The yeast load of the plants samples, in the year 2021	106
Table 8.5 The yeast load in case of the samples taken from the plants in the year 2022	108
Table 9.1 Division of isolated yeast species into systematic units	113
Table 9.2 Isolated yeasts from the indigenous microflora of the Copou vine center, in various phenophases in the years 2021-2022	114
Table 9.3 Distribution of selected yeast strains according to source of isolation	115
Table 9.4 The symmetrical matrix according to the Jaccard coefficient (% similarity) between the 6 strains isolated from the conditions of the Copou Iași vine Center	121
Table 9.5 Morphological characteristics of isolated yeast colonies in 2021	123
Table 9.6 Morphological characteristics of isolated yeast colonies in 2022	128

LISTA FIGURILOR

Figura 3.1 Evoluția suprafețelor plantațiilor cu viță de vie, la nivel mondial, în perioada 2000-2021	42
Figura 3.2 Evoluția producțiilor de struguri, la nivel mondial, în perioada 2000-2021	43
Figura 3.3 Ponderea producțiilor de struguri pe continente (media anilor 2000-2021).....	43
Figura 3.4 Suprafețele plantate cu viță de vie în Europa (2000-2021)	44
Figura 3.5 Producția de struguri în Europa (indiferent de utilizare) (2000-2021)	45
Figura 3.6 Suprafața și ponderea plantațiilor de viță de vie în Europa (media anilor 2000-2021).....	45
Figura 3.7 Dinamica suprafețelor plantațiilor de viță de vie în România (2000-2021).....	46
Figura 3.8 Producțiile de struguri (indiferent de utilizare) la nivel național în anii 2000-2021	47
Figura 4.1 Imagine microscopică a celulelor de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	49
Figura 5.1 Structura pedologică a județului Iași	54
Figura 5.2 Regimul termic în anii de experiență.....	59
Figura 5.3 Regimul pluviometric în anii de experiență.....	61
Figura 6.1 <i>Vitis vinifera</i> (A) Fetească Albă, (B) Fetească Neagră, (C) Busuioacă de Bohotin.....	64
Figura 6.2 Ponderea soiurilor de struguri pentru vin în Ferma didactică „Vasile Adamachi”	68

Figura 6.3 Mașina pentru tratamente fitosanitare ATOM 1000.....	71
Figura 6.4 Fenofaza de lăstar 5-7 cm, în condițiile Fermei Didactice „Vasile Adamachi” Iași.....	77
Figura 6.5 Finalul înfloritului, în condițiile Fermei Didactice „Vasile Adamachi” Iași.....	78
Figura 6.6 Sondă pedologică pentru prelevare sol	78
Figura 6.7 Metoda de prelevare a probelor parțiale în zig-zag	79
Figura 6.8 Metoda diluțiilor succesive.....	80
Figura 6.9 Etapa de zvântare a probelor de sol	81
Figura 6.10 Etapa de mojarare a solului	81
Figura 6.11 Izolarea levurilor prin metoda de spălare a bacelor.....	82
Figura 6.12 Izolarea levurilor prin metoda de spălare a inflorescențelor.....	82
Figura 6.13 Realizarea diluțiilor și inocularea în plăci Petri.....	84
Figura 6.14 Inocularea diluțiilor în mediu GPCA.....	84
Figura 6.15 Placa de numărat colonii Wolfhügel	85
Figura 6.16 Tehnica însămânțării prin epuizarea încărcăturii ansei.....	86
Figura 6.17 Analiza microscopică a sușelor izolate.....	87
Figura 6.18 Etapele metodei PCR.....	88
Figura 6.19 ADN polimerază Taq.....	89
Figura 6.20 Amplificator (thermal cycler).....	90
Figura 7.1 Dinamica creșterii lăstarilor în anul 2021.....	96
Figura 7.2 Dinamica creșterii lăstarilor în anul 2022.....	97
Figura 8.1 Influența factorilor experimentali asupra încărcăturii levuriene din sol, în anul 2021.....	100
Figura 8.2 Influența factorilor experimentali asupra încărcăturii levuriene din sol, în anul 2022.....	102
Figura 8.3 Dinamica evoluției încărcăturii levuriene a probelor de pe plante, din stadiu de inflorescență la bace mature, în anul 2021	107
Figura 8.4 Dinamica evoluției încărcăturii levuriene a probelor de pe plante din stadiu de inflorescență la bace mature în anul 2022	109

Figura 8.5 Influența factorilor experimentali asupra încărcăturii levuriene de pe plante, în cei doi ani de studiu.....	110
Figura 9.0.1 Levuri izolate din microflora vinicolă a centrului viticol Copou, Podgoria Iași în anii 2021-2022.....	117
Figura 9.0.2 Distribuirea sușelor izolate în cadrul soiurilor de struguri luate în studiu.....	118
Figura 9.0.3 Dendrogramă generată de programul TreeView (Page, 1996), alcătuită pe bază matricei similarității după metoda UPGMA folosind coeficientul Jaccard.....	120
Figura 0.4 Compararea secvențelor ADN ale sușelor izolate prin programul VectorBuilder 2.0.....	121
Figura 9.0.5 Caracterele morfologice ale sușelor C1-C4 - (a) aspectul coloniei, (b) aspectul celulei la microscop.....	124
Figura 9.0.6 Caracterele morfologice ale sușelor A5-C15 - (a) aspectul coloniei, (b) aspectul celulei la microscop.....	125
Figura 9.0.7 Caracterele morfologice ale sușei B16 - (a) aspectul coloniei, (b) aspectul celulei la microscop	126
Figura 9.0.8 Caracterele morfologice ale sușei B17 - (a) aspectul coloniei, (b) aspectul celulei la microscop	127
Figura 9.0.9 Caracterele morfologice ale sușelor B18-C20 - (a) aspectul coloniei, (b) aspectul celulei la microscop.....	129
Figura 9.0.10 Caracterele morfologice ale sușelor N21-C25 - (a) aspectul coloniei, (b) aspectul celulei la microscop.....	130
Figura 9.0.11 Caracterele morfologice ale sușelor N26-C29 - (a) aspectul coloniei, (b) aspectul celulei la microscop.....	131
Figura 9.0.12 Caracterele morfologice ale sușelor B30-A32 - (a) aspectul coloniei, (b) aspectul celulei la microscop.....	132
Figura 9.0.13 Caracterele morfologice ale sușei A33 - (a) aspectul coloniei, (b) aspectul celulei la microscop	133

Figura 9.0.14 Caracterile morfologice ale suşei B34 - (a) aspectul coloniei, (b) aspectul celulei la microscop	134
--	-----

LIST OF FIGURES

Figure 3.1 The evolution of the areas of vine plantations, worldwide, in the period 2000-2021	42
Figure 3.2 The evolution of grape production, worldwide, in the period 2000-2021	43
Figure 3.3 Share of grape production by continent (2000-2021 average)	43
Figure 3.4 Area cultivated with vines in Europe (2000-2021).....	44
Figure 3.5 Production of grapes in Europe (regardless of use) (2000-2021).....	45
Figure 3.6 Area and share of vine plantations in Europe (2000-2021 average).	45
Figure 3.7 The dynamics of the areas of vine plantations in Romania (2000-2021)	46
Figure 3.8 Grape production (regardless of use) at national level in the years 2000-2021	47
Figure 4.1 Microscopic image of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> cells	49
Figure 5.1 Pedological structure of Iasi County	54
Figure 5.2 Thermal regime in years of experience	59
Figure 5.3 Rainfall regime in years of experience	61
Figure 6.1 <i>Vitis vinifera</i> (A) Fetească Albă, (B) Fetească Neagră, (C) Busuioacă de Bohotin.....	64
Figure 6.2 Share of grape varieties for wine in the "Vasile Adamachi" research farm.....	68
Figure 6.3 ATOM 1000 phytosanitary treatment machine	71
Figure 6.4 Shoot phenophase 5-7 cm, under the conditions of the "Vasile Adamachi" Research Farm Iași.....	77
Figure 6.5 The end of flowering, under the conditions of the Research Farm "Vasile Adamachi" Iași.....	78
Figure 6.6 Pedological probe for soil sampling	78

Figure 6.7 The zig-zag sampling method.....	79
Figure 6.8 The method of successive dilutions.....	80
Figure 6.9 The stage of shaking soil samples	81
Figure 6.10 The stage of mortaring the soil	81
Figure 6.11 Yeasts isolation by the berry washing method	82
Figure 6.12 Yeasts isolation by the inflorescence washing method	82
Figure 6.13 Making dilutions and inoculating in Petri dishes	84
Figure 6.14 Inoculation of dilutions in GPCA medium.....	84
Figure 6.15 Wolfhügel Colony Counting Board.....	85
Figure 6.16 Technique of seeding by depleting the load of the hook	86
Figure 6.17 Microscopic analysis of isolated strains	87
Figure 6.18 The PCR method steps	88
Figure 6.19 Taq DNA polymerase.....	89
Figure 6.20 Amplifier (thermal cycler).....	90
Figure 7.1 The dynamics of shoot growth in 2021	96
Figure 7.2 The dynamics of shoot growth in 2022	97
Figure 8.1 The influence of experimental factors on the yeast load in the soil, in the year 2021.....	100
Figure 8.2 The influence of experimental factors on the yeast load in the soil, in the year 2022.....	102
Figure 8.3 The evolution dynamics of the yeast load of plant samples, from the inflorescence stage to mature berries, in the year 2021	107
Figure 8.4 The dynamics of the evolution of the yeast load of samples from plants from the inflorescence stage to mature berries in the year 2022.....	109
Figure 8.5 The influence of the experimental factors on the yeast load on the plants, during the two years of the study	110
Figure 9.0.1 Distribution of selected yeast strains according to source of isolation	117
Figure 9.0.2 Distribution of isolated strains within the studied grape varieties	118

Figure 0.3 Dendrogram generated by TreeView program (Page, 1996), based on the similarity matrix according to the UPGMA method using the Jaccard coefficient	120
Figure 0.4 Comparison of DNA sequences of isolated strains by VectorBuilder 2.0 program	121
Figure 0.5 Morphological characters of strains C1-C4 - (a) colony appearance, (b) cell appearance under microscope.....	124
Figure 0.6 Morphological characters of strains A5-C15 - (a) colony appearance, (b) cell appearance under microscope.....	125
Figure 0.7 Morphological characters of strain B16 - (a) colony appearance, (b) cell appearance under the microscope	126
Figure 0.8 Morphological characters of strain B17 - (a) colony appearance, (b) cell appearance under the microscope	127
Figure 0.9 Morphological characters of strains B18-C20 - (a) colony appearance, (b) cell appearance under microscope.....	129
Figure 0.10 Morphological characters of strains N21-C25 - (a) colony appearance, (b) cell appearance under microscope.....	130
Figure 0.11 Morphological characters of strains N26-C29 - (a) colony appearance, (b) cell appearance under microscope.....	131
Figure 0.12 Morphological characters of strains B30-A32 - (a) colony appearance, (b) cell appearance under microscope.....	132
Figure 0.13 Morphological characters of strain A33 - (a) colony appearance, (b) cell appearance under the microscope	133
Figure 0.14 Morphological characters of strain B34 - (a) colony appearance, (b) cell appearance under the microscope	134

Secvență *Cryptococcus aerius*

AAGGATCATTAGTGAATTAAACATGCTTGGTGTCTTCGCTTCGGCAAGGCCCTTGCTTAACTCACATCCCAACACCTGTG
 AACTGTAAGGCGCATGACTAGGTTTCGCCAAGTCATCGTCTGCCCTTTTAAACAAACAATTAATGTAACAAACGTAGTCT
 TATTATAACCTAATAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTA
 ATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCTTTGGTATTCCGAAGAGCATGCCTGT
 TTGAGTGTATGAAAATATCAACCTTGACTTGGGTTTTGTGCTCTAGTCTCGGCTTGGAATTGGGTGCTTGCCGCTTTTA
 CGAGCGGCTCACCTTAAATGTATTAGCTGGATCTGTCTTTGAGACTTGTTTTGACTTGCGGTAATAAGTATTTTCGCTAAG
 GACATTCTTCGGAGTGGCCTCGTTTCTAGGACGCTTGTCGCTTTCCAATACAAGTTCCACCTTGTGGACATGACTTTTT
 ATTATCTGGCCTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAA

Secvență *Cystobasidium pinicola*

AAGGATCATTAATGAATTTTAGGACTCTCTTTTAGAGGTCCGACCCTTTCATTTCTTACACTGTGCACACACTTCTTT
 TCACACATTTTAACTATAGTATAAGAATGTAACAGTCTCTTTATTGAGCATAAATAAAAATAAACTTTTCAGCAACGG
 ATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAATTGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGA
 ATCTTTGAACGCACCTTGCACTCTTTGGTATTCCGAAGAGTATGTCTGTTTGAGTGTATGAACTCTCAACCCCCCTAT
 TTTGTAATGAGATGGGCGTGGGCTTGATTATGACTGCTGTGCGCGTAATTGCCGCTCAGTTGAAATACACGAGCAACC
 CATTTGAAATAAACGGCTTGACTCGGCGTAATAATTATTTTCGCTGAGGACGTTTTCTTCAAAGTAAGAGGTGCTTCTAA
 TGCGCTTTTATAGCATTTATATTTTAGACCTCAAATCAGTCAGGACTACCCGCTGAACTTAA

Secvență *Filobasidium floriforme*

AAGGATCATTAATGAATAAAGGTATCACGCCTCACGGCTGTGTGTTGGATCATTGTGCAATAGTCTTTGATCCACTTCCT
ATCATATCCATAACACCTGTGCACTGTTGGATGCTTGCATCCACTTTTAAACTAAACATTATTGTAACAAATGTAGTCTT
ATTATAACATAATAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAA
TGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTT
TGAGTGTGTCATGAAACCCTCAAACCAAGTTTTGGATTTGATCCATGCTTGAGTTTGGATTTGGATGTTTGCCGGTGATG
AACCGACTCATCTTAAAAGTATTAGCTTGGATCTGTCTATATGACTGGTTTGAAGTTGGCATAATAAGTATTTTGCTGAGG
ACATCTTCGGATGGCCAGGACCTAGACTACTGTCTGCTAACTAAACCATCACTTTAAGTGCATCTTTGGATGTTACTCAT
TGTGTAACCTTGACATCTGGCCTCAAATCAAGTAGGACTACCCGCTGAACTTAA

Secvență *Hanseniaspora uvarum*

AAGGATCATTAGATTGAATTATCATTGTTGCTCGAGTTCTTGTTTAGATCTTTTACAATAATGTGTATCTTTATTGAAGA
TGTGCGCTTAATTGCGCTGCTTCTTTAGAGTGTGCGAGTAGAAGTAGTCTTGCTTGAATCTCAGTCAACGCTACACACAT
TGGAGTTTTTTACTTTAATTTAATTCTTTCTGCTTTGAATCGAAAGGTTCAAGGCAAAAAACAAACACAAACAATTTTAT
TTTATTATAATTTTTTAAACTAAACCAAAATTCCTAACGGAAATTTTAAAATAATTTAAACTTTCAACAACGGATCTCT
TGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAATTGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGATACTCGTGAATCATTGAATTTTT
GAACGCACATTGCGCCCTTGAGCATTCTCAGGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTTCTCAAAGATAATTTATTAT
TTTTTGTTGTGGGCGATACTCAGGGTTAGCTTGAAATTGGAGACTGTTTCAGTCTTTTTTAATTCAACACTTAGCTTCT
TTGGAGACGCTGTTCTCGCTGTGATGTATTTATGGATTTATTCGTTTTACTTTACAAGGGAAATGGTAACGTACCTTAGG
CAAAGGGTTGCTTTTAATATTCATCAAGTTTGACCTCAAATCAGGTAGGATTACCCGCTGAACTTAA

Secvență *Rhodotorula glutinis*

AAGGATCATTAGTGAATCTAGGACGTCCAACCTTAACCTTGGAGTCCGAACCTCTCACTTTCTAACCCCTGTGCATCTGTTAAT
TGGAAATAGTAGCTCTTCGGAGTGAACCACCATTCACTTATAAAACACAAAGTCTATGAATGTATACAAATTTATAACAAA
ACAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCA
GAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGAGTGTCTATG
AAATCTTCAACCCACCTCTTTCTTAGTGAATCTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT
CGTAATGCATTAGCATCCGCAACCGAAGCTTCGGATTGACTTGGCGTAATAGACTATTCGCTGAGGATTCTAGTTTACTAG
AGCCGAGTTGGGTTAAAGGAAGCTCCTAATCCTAAAGTCTATTTTTTTGATTAGATCTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCT
GAACTTAA

Secvență *Solicoccozyma aeria*

GGATCATTAGTGAATTAACATGCTTGGTGTCTTCGCTTCGGCAAGGCCCTTGCTTAACTCACATCCCAACACCTGTGAA
CTGTAAGGCGCATGACTAGGTTCCGCCAAGTCATCGTCTGCCCTTTTTTAACAAACAATTAATGTAACAAACGTAGTCTTA
TTATAACCTAATAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAAT
GTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCTTTGGTATTCCGAAGAGCATGCCTGTTT
GAGTGTCTATGAAAATATCAACCTTGACTTGGGTTTTGTGCTCTAGTCTCGGCTTGGAATTGGGTGCTTGCCGCTTTTACG
AGCGGCTCACCTTAAATGTATTAGCTGGATCTGTCTTTGAGACTTGGTTTGACTTGGCGTAATAAGTATTTTCGCTAAGGA
CATTCTTCGGAGTGGCCTCGTTTCTAGGACGCTTGCCGCTTTCCAATACAAGTTCCACCTCGTGGACATGACTTTTTAT
TATCTGGCCTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAAC

LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

1. **Patrolea (Atodiresei) C., Ulea E., Lipșa F.D. (2022)** – *The identification of some yeast strains from vineyard Iași, Romania*, Revista Lucrări Științifice, vol. 65(2)/2022, Seria AGRONOMIE, 81-84
2. **Patrolea (Atodiresei) C., Ulea E., Lipșa F.D. (2022)** – *Yeast diversity in winemaking in Romania and abroad: a review*, Revista Lucrări Științifice, vol. 65(2)/2022, Seria AGRONOMIE, 165-168
3. **Patrolea (Atodiresei) C., Lipșa F.D., Ulea E. (2023)** – *Contributions regarding some soil yeast strains from vineyard Iași, Romania*, Revista Lucrări Științifice, vol. 66(1)/2023, Seria AGRONOMIE – Lucrare acceptată spre publicare
4. **Patrolea (Atodiresei) C., Lipșa F.D., Ulea E. (2023)** – *The influence of phytosanitary treatments on the soil yeast load in vineyard Iași, Romania*, Revista Lucrări Științifice, vol. 66(1)/2023, Seria AGRONOMIE – Lucrare acceptată spre publicare