

REZUMAT

CERCETĂRI PRIVIND CALITATEA FRUCTELOR ȘI DIVERSITATEA GENETICĂ A UNOR GENOTIPURI DE SMOCHIN DIN ZONA DE SUD-VEST A ROMÂNIEI

Conducător Științific: PROF. UNIV. DR. IORDĂNESCU OLIMPIA ALINA

Doctorand: Ing. BONA ANA

Cuvinte cheie: *Ficus carica* L., smochin, genotip, similaritate, calitate fructe, însușiri chimice, markeri moleculari, diversitate genetică, Svinița, Orșova.

Teza de doctorat intitulată „*Cercetări privind calitatea fructelor și diversitatea genetică a unor genotipuri de smochin din zona de Sud-Vest a României*” este structurată pe două părți principale: Partea I. Stadiul actual al cunoașterii și Partea a II- a. Cercetări proprii, urmate de concluziile generale și elementele de originalitate.

Cele două părți principale ale tezei cuprind patru capitole:

- Capitolul 1. Smochinul - *Ficus carica* Linn., genul *Ficus*, familia Moraceae – studiul speciei;
- Capitolul 2. Evaluarea calității fructelor genotipurilor de smochin studiate pe baza caracteristicilor externe și interne;
- Capitolul 3. Studiul interrelațiilor și al diversității fenotipice dintre unele caractere morfologice ale fructelor;
- Capitolul 4. Evaluarea diversității genetice a genotipurilor de smochin studiate prin intermediul markerilor moleculari.

Lucrarea cuprinde un număr de 82 de tabele, 43 de figuri și 119 referințe bibliografice.

Motivația alegerii temei este susținută de faptul că Orșova, orașul de unde provine o parte din materialul biologic utilizat în studiul de față, s-a remarcat mereu printr-o așezare frumoasă și un istoric încărcat de emoție și tradiții, fiind situat, în trecut, la doar trei kilometri de superba insulă Ada-Kaleh (scufundată în anul 1971, în urma construcției hidrocentralei de la Porțile de Fier I), cunoscută drept un paradis exotic unde smochinii creșteau luxuriant și de unde provin astăzi majoritatea smochinilor existenți în zonă.

Fiind din orașul Orșova, am crescut printre smochini și am gustat din unicitatea acestui minunat fruct. Datorită faptului că smochinul s-a adaptat foarte bine acestei zone am decis să colectăm genotipurile care cresc în diferite locații ale orașului, sub formă subsontană și de asemenea genotipuri din bine cunoscuta localitate, denumită și „țara smochinelor”, Svinița.

Ca **obiectiv principal** al studiului, s-a urmărit identificarea unor genotipuri cu caractere ale fructelor deosebite, pentru a le putea urmări, analiza și descrie, în vederea selectării acestora pentru o posibilă luare în cultură.

Au fost analizate însușirile fizico-chimice ale fructelor celor două recolte, smochinul fiind o specie biferă, ceea ce o face și mai valoroasă din punct de vedere economic.

Studiile necesare realizării tezei de doctorat au avut loc în perioada vară - toamnă 2020 și vară - toamnă 2021, timp în care fructele la maturitatea de consum, au fost recoltate și analizate.

În vederea caracterizării cât mai precise a acestor genotipuri alese, s-au folosit metode de cercetare elaborate, cum ar fi utilizarea markerilor moleculari pentru stabilirea diversității genetice, precum și analize chimice complexe.

SINTEZA CAPITOLULUI 1. Smochinul - *Ficus carica* Linn., genul *Ficus*, familia Moraceae – studiul speciei

În acest capitol, parte al primei părți a tezei, au fost prezentate informații referitoare la biologia și ecologia smochinului, importanța speciei și a culturii și cultura smochinului la nivel mondial și în România.

Teritoriul geografic al originii smochinului, încă subiect de discuție al botaniștilor, cuprinde vestul Asiei, Orientul Mijlociu și unele ținuturi situate în estul Bazinului Mediteranean, întinse din estul Greciei până în Afganistan, regiuni unde se cultivă pe suprafețe mari.

Smochinul este o specie termofilă, rezistând la temperaturi de până la +40 °C, iarna cele de sub -16 °C fiindu-i fatale. În România, pentru a supraviețui temperaturilor scăzute din perioada iernii, smochinul este protejat cu diferite materiale (folie, resturi vegetale, fân) sau prin îngropare.

În zonele de origine, smochinul crește în soluri cu expunere directă la soare, bine drenate, calde și aride. Smochinul preferă să crească și să se dezvolte pe stânci sau dealuri, unde solul este bine drenat, dispunând de soare și căldură din toate părțile, mai degrabă decât în soluri foarte bogate și reci.

Smochinul crește sub formă de tufă sau arbustoid cu 4-7 tulpini în țara noastră, sau ca pom propriu-zis de talie mijlocie (6-8 m) în bazinul mediteranean. Morfologic, smochinul este o specie ginodioică, cu plante masculine numite caprificuși care produc inflorescențe (sicone) cu flori masculine și femele și plante femele care produc doar flori femele care, atunci când sunt polenizate, evoluează în smochine comestibile. Datorită faptului că plantele masculine sunt singurele care produc polen, smochinul comun este considerat o specie funcțional dioică.

Majoritatea cultivarelor de smochin sunt rezultatul selecției îndelungate, iar menținerea lor în cultură se realizează prin înmulțire vegetativă.

Deși smochinul este influențat de condițiile de mediu din punct de vedere genetic, caracterele morfologice și agronomice reprezintă mijloace utile pentru supraviețuirea diversității speciei. O gamă largă de markeri moleculari utilizați pentru determinarea polimorfismului genetic și numeroase cercetări despre diversitatea genetică a smochinului au fost realizate pe parcursul anilor. Cunoașterea diversității genetice, structurii și diferențierii populațiilor contribuie semnificativ la conservarea, managementul și utilizarea colecțiilor de germoplasma.

Cultura smochinului a fost mult timp o tradiție agricolă în regiunea mediteraneană, oferind beneficii economice și sociale comunităților locale. În economia lumii, smochinul este de veacuri una dintre speciile cu importanță deosebită grație plasticității ecologice și însușirii plantelor de a produce fructe comestibile indiferent de condițiile de creștere (cultivate sau spontane).

În România, în satul Svinița, zona cu cei mai mulți smochini din țară, are loc anual Festivalul Smochinelor, care reprezintă o atracție pentru turiștii din țară și străinătate care vizitează Clisura Dunării. Aceștia contribuie, prin cumpărarea produselor pe bază de smochine făcute de localnici, la creșterea veniturilor familiilor și creșterea economică a zonei.

SINTEZA CAPITOLULUI 2. Evaluarea calității fructelor genotipurilor de smochin studiate pe baza caracteristicilor externe și interne

Acest capitol face parte din partea a doua a tezei de doctorat, *Cercetări proprii*, și cuprinde prezentarea materialului biologic utilizat, metodele folosite pentru determinarea calității fructelor, precum și rezultatele obținute în urma cercetărilor efectuate.

Scopul acestui capitol a fost să se evalueze calitatea fructelor genotipurilor de smochin, pe baza caracteristicilor externe și interne, prin diferite metode de studiu și analiză.

Obiectivele acestui capitol au fost:

- Identificarea și prelevarea materialului biologic din două locații din zona de sud-vest a României: orașul Orșova și comuna Svinița;
- Fotografierea pomilor aleși și a fructelor acestora;
- Realizarea de măsurători biometrice asupra fructelor ambelor recolte;
- Descrierea fructelor genotipurilor pe baza ghidului creat de IPGRI și CIHEAM, 2003, pentru această specie;
- Stabilirea calității fructelor prin: - descrierea fructelor pe baza caracteristicilor externe și interne;
- analizarea compoziției chimice a fructelor.

Evaluarea calității fructelor pe baza însușirilor fizice s-a realizat prin determinarea unor parametri propuși și descriși de IPGRI și CIHEAM, 2003.

Parametrii determinați și analizați au fost:

- Greutatea fructului;
- Determinarea diametrului mare;
- Înălțimea fructului;
- Indicele de formă;
- Forma fructului;
- Diametrul ostiloei;
- Înălțimea și forma pedunculului;
- Crăpăturile pielii;
- Culoarea pielii;
- Culoarea pulpei;
- Perioada de coacere;

Valorile prezentate în tabele pentru acești parametri prezintă media valorilor celor doi ani, pentru fiecare recoltă.

Greutatea fructului (g) s-a determinat prin cântărirea a 20 de fructe, din ambele recolte, pe un cântar electronic.

Înălțimea fructului (cm), diametrul mare al fructului (cm), diametrul ostiolei (cm) și înălțimea pedunculului s-au determinat prin măsurarea cu șublerul a unui număr de 20 de fructe ajunse la maturitatea de consum.

Culoarea pielii și a pulpei, crăpăturile pielii, forma fructului și a pedunculului au fost determinate vizual și descrise conform ghidului descriptiv al smochinului propus de IPGRI și CIHEAM, 2003.

Evaluarea calității fructelor pe baza însușirilor chimice s-a realizat prin mai multe determinări și analize:

- Determinarea conținutului în zahăr (%);
- Determinarea conținutului în substanță uscată refractometrică (SU °Bx);
- Determinarea umidității fructelor;
- Determinarea pH-ului;
- Determinarea acidității titrabile (g/L acid citric);
- Determinarea conținutului în polifenoli totali (CPT) – capacitatea antioxidantă;
- Determinarea conținutului în macro și micro-minerale.

Valorile prezentate în tabele din lucrare, pentru aceste determinări, reprezintă atât media valorilor anilor 2020-2021, cât și media valorilor ambelor recolte.

În urma determinărilor făcute asupra caracterelor externe ale fructului și a caracteristicilor fizice, s-a concluzionat că genotipurile studiate se pot împărți pe grupe în funcție de aceste caractere.

Astfel, s-au determinat genotipuri cu fructe mici și culoarea pielii cu nuanțe mov, precum: C1, C2, C3, F1, M2, S1 și SV1, cu pulpa rozalie sau roșiatică sau genotipuri cu fructe mari și medii cu pielea de nuanțe maronii și pulpa cu nuanțe de chihlimbar, precum: L1, SV2, SM1, IJ1 și F2.

S-a contat ca genotipul F3 are un aspect al fructului mai aparte acesta fiind verde cu peduncul lung și curbat, spre deosebire de celelalte genotipuri care au avut peduncul scurt și gros.

Pe lângă mărimea fructului, forma acestora a variat și ea însă, fiind constantă pe parcursul celor doi ani. S-a observat faptul că fructele primei recolte sunt mai mari ca mărime pentru toate genotipurile, greutatea și înălțimea acestora având valori mai ridicate decât în cea de-a doua recoltă. Aceasta se datorează faptului că smochinele din prima recoltă sunt de fapt smochinele formate cu un sezon în urmă, și astfel au un avantaj de creștere, însă, sunt mai puține ca număr și nu prezintă atât de multă valoare comercială.

Datorită condițiilor pedoclimatice diferite, s-a contat faptul că genotipurile care cresc în Svinița (S1, SM1, SV1 și SV2) încep să fructifice încă din luna iunie și până în septembrie, spre deosebire de genotipurile din Orșova care încep fructificarea în luna iulie.

În ceea ce privește conținutul în zahăr și substanță uscată al fructelor genotipurilor studiate, s-a constatat că majoritatea dintre acestea acumulează cantități considerabile de zaharuri în fruct. S-a constatat faptul că zahărul conținut de genotipurilor studiate, din ambele recolte, în perioada 2020-2021, a avut valori cuprinse între 18,15 % la genotipul IJ1 și 28,90 % la genotipul C3, iar SU a avut valori între 26,76 °Bx la genotipul C3 și 16,68 °Bx la genotipul IJ1.

Valorile umidității fructelor genotipurilor studiate a avut valori cuprinse între 84,68 % la genotipul F3 și 75,16 % la genotipul C1, cu o medie a experienței de 78,77 %.

Aciditatea fructelor a avut valori între 0,32 % la genotipul SV1 și 0,15 % la genotipul SV2.

Valorile pH-ului nu au avut variații foarte mari de la un genotip la altul (5,84 la genotipul L1 și 5,12 la genotipul S1).

Dintre toate macromineralele determinate, calciul și potasiul au înregistrat valorile cele mai mari pentru toate genotipurile, iar din grupa micromineralelor, fierul și zincul au avut cele mai mari valori.

Din punct de vedere al conținutului în polifenoli totali, s-a observat faptul că fructele genotipurilor cu pielea de nuanțe mov (C1, C2, C3, M2, S1, SV1 și F1) au avut valori mai ridicate ale acestui parametru, ceea ce dovedește o activitate antioxidantă mai mare, influențată de culoarea fructului.

SINTEZA CAPITOLULUI 3. Studiul interrelațiilor și al diversității fenotipice dintre unele caractere morfologice ale fructelor

În Capitolul 3 s-a urmărit pe de o parte studiul interrelației dintre unele caractere morfologice ale fructelor la genotipurile de smochin studiate, iar pe de altă parte diversitatea fenotipică dintre aceleași genotipuri.

Scopul acestui capitol a fost să se evidențieze relațiile dintre unele caractere morfologice, mai precis diametrul, înălțimea și greutatea fructului cu conținutul în zaharuri al fructelor genotipurilor studiate.

Obiectivele acestui capitol au fost:

- Analiza legăturilor dintre unele caractere morfologice ale fructelor genotipurilor studiate;
- Corelarea conținutului în zahăr al fructelor cu greutatea, înălțimea și diametrul acestora;
- Studiul diversității fenotipice dintre genotipurile studiate pe baza caracterelor fructelor.

Pe parcursul acestui capitol genotipurilor studiate li s-au atribuit alte condicări (conform Tabelului nr. 3.1 din teză), pentru o mai bună cursivitate în parcurgerea și înțelegerea rezultatelor obținute.

Analiza varianței pentru regresia multiplă referitoare la influența diferitelor caractere morfologice ale fructelor asupra conținutului de zahăr al acestora la genotipurile studiate a indicat faptul că valorile variabilității cantității de zahăr din fruct este influențată de celelalte caractere. Valorile acestei variabilități a fost diferită de la un genotip la altul, astfel: la genotipul OF1 valoarea acesteia a fost de 52,84 %, cu contribuția majoră a înălțimii și greutății fructului (24,25-24,48 %), iar diametrul (4,11%) a avut o influență mai redusă asupra conținutului în zahăr.

La genotipul OF2, înălțimea fructului a avut o influență majoră distinct semnificativă de 71,80 % la realizarea cantității de zahăr din fruct, fiind urmată de greutatea fructului care influențează conținutul de zahăr într-o măsură de 19,12 %.

În cazul genotipului OF3 diametrul și greutatea fructului au contribuții importante și semnificative de 29,14-30,27 % la realizarea cantității de zahăr din fruct, în timp ce efectul înălțimii fructului sunt considerabil mai reduse (2,49 %).

La genotipul OM și genotipul OD3, greutatea fructelor a avut o contribuție majoră 60,34 %, respectiv 61,41 % la realizarea conținutului de zahăr, în timp ce înălțimea (18,87 %, respectiv 14,98 %) și diametrul (9,40 %, respectiv 17,81 %) fructului au avut influențe semnificative, dar considerabil mai reduse.

În ceea ce privește influența caracterelor fructelor asupra conținutului în zahăr al genotipului OI, înălțimea fructului a avut o influență majoră, distinct semnificativă de 57,82 % la realizarea cantității de zahăr din fruct, în

timp ce greutatea și diametrul fructului au avut influențe considerabil mai reduse (0,16-0,29 %) și neasigurate statistic.

La genotipurile OD1 și OD2, înălțimea fructului a avut cea mai ridicată contribuție (63,72 %, respectiv 60,97 %) la realizarea cantității de zahăr din fruct, în timp ce efectul greutateii fructului a fost considerabil mai redus la genotipurile OD1 (14,88 %), în timp ce la genotipurile OD2 modificarea greutateii fructului nu a fost asociată cu variații ale cantității de zahăr din fruct.

În cazul genotipurilor ODM1, ODM2 și OD3, greutatea fructelor a avut contribuție majoră la realizarea conținutului de zahăr 39,40 %, 45,15 respectiv 61,41 %, în timp ce înălțimea fructului a influențat cu 7,80 % la genotipurile ODM2, 29,19 % la genotipurile ODM1 și 14,98 %, cantitatea de zahăr din fruct.

În cazul genotipurilor SV1 și SV2 înălțimea fructului a avut cea mai ridicată contribuție 87,99 %, respectiv 66,29 %, la realizarea conținutului în zahăr.

Cea mai ridicată omogenitatea interindividuală a greutateii fructelor a fost înregistrată la genotipurile OF3, OD1 și OD3, urmate de genotipurile OD2, ODM2 și SV1. Cea mai ridicată variabilitate intergenotipală a înălțimii fructelor a fost observată la genotipurile SVA2, urmată de genotipurile ODM1. Amplitudini mari între valorile acestui caracter au fost observate la genotipurile SV2 și OM.

Cea mai mare variabilitate și amplitudine a diametrului fructului a fost înregistrată de genotipurile ODM2 și OF2. Cea mai redusă variabilitate și amplitudine intergenotipală a fost consemnată la genotipurile OF3 și SV1.

Cea mai ridicată omogenitate interindividuală a înălțimii fructului a fost înregistrată la genotipurile ODM1 și OF3. Cea mai ridicată variabilitate intergenotipală a acestui caracter a fost observată la genotipurile SVA1, urmată de genotipurile OF2.

Cea mai ridicată similaritate fenotipică s-a manifestat între genotipurile ale căror fructe sunt asemănătoare ca formă și mărime, astfel: OD2 și ODM2 (99,72 %) – fructe mici; OM și ODM1 (99,48%) – fructe mari; OF3 și OM (99,17 %) – fructe mari; OD1 și ODM2 (99,11%) – fructe mici; OF3 și ODM1 (98,89%) – fructe mari.

Un nivel redus al similarității, respectiv unul ridicat de diversitate fenotipică bazată pe mărimea diferită a fructelor, fost constatat între genotipurile: OF1 și SV2 (72,05 %) – fructele genotipurii OF1 sunt foarte mici comparativ cu cele ale genotipurii SV2; OD2 și SV2 (62,52 %) – genotipurii OD2 are fructe mici, iar SV2 fructe mari; ODM2 și SV2 (62,62 %); OF1 și OI (57,34 %).

SINTEZA CAPITOLULUI 4. Evaluarea diversității genetice a genotipurilor de smochin studiate prin intermediul markerilor moleculari

Scopul acestei părți din cercetare a fost să se determine diversitatea genetică a genotipurilor de smochin luate în studiu cu ajutorul markerilor moleculari.

Obiectivele acestui capitol au fost:

- Prelevarea și pregătirea materialului vegetal necesar desfășurării studiului;
- Extragerea ADN din materialul vegetal;
- Urmărirea pașilor necesari în vederea determinării diversității genetice;
- Interpretarea statistică a datelor obținute în urma determinării diversității genetice;
- Stabilirea și justificarea similarității sau a diversității dintre genotipurile studiate.

Pentru o mai bună cursivitate în parcurgerea și înțelegerea rezultatelor obținute, pe parcursul acestui capitol, numele genotipurilor a fost schimbat, folosindu-se aceeași codificare prezentată în Tabelul nr. 3.1 al tezei.

În urma analizării corelațiilor făcute, s-a concluzionat faptul ca primerii folosiți pentru a determina diversitatea genetică a genotipurilor studiate au făcut grupările în funcție de locația de unde a fost prelevat materialul biologic. Cele mai multe grupări de clustere au cuprins genotipuri provenite din aceeași locație, unde condițiile pedo-climatice și agrotehnica au fost similare.

Numărul total de benzi generate de primerii respectivi a fost cuprins între 53 la ISSR și 193 la DAMD, rezultând o rata medie a polimorfismului de la 95,85 % pentru DAMD până la 100 % pentru ISSR (Tabelul nr. 4.12). Numărul mediu de benzi polimorfice/primer a variat de la 26,5 pentru ISSR până la 41,75 pentru SCoT. Indicele de discriminare (PI), care atestă eficiența unui anumit primer în detectarea polimorfismului a înregistrat valori cuprinse între 9,807 pentru ISSR și 14,577 pentru SCoT, care are cea mai ridicată capacitate de a genera benzi polimorfice la genotipurile cuprinse în studiu.

În urma analizelor efectuate prin intermediul celor 11 primeri, au fost identificate fragmente unice de ADN doar la anumite genotipuri. Având în vedere că la toate genotipurile de smochin au fost identificate alele specifice, genotipul OF2 a prezentat cele mai multe (7), urmat de genotipurile OD1 și SVA2 cu cinci benzi specifice, în timp ce la genotipul SV1 a fost identificată doar o singură astfel de bandă.

Determinarea diversității genetice dintre genotipurile de smochin studiate, cu ajutorul markerilor moleculari a demonstrat faptul că această abordare de a caracteriza genotipurile, reprezintă o unealtă indispensabilă în identificarea și conservarea genotipurilor valoroase.

Smochinul ar putea reprezenta o specie care să aducă un plus economiei locale și naționale, dacă cultivatorii și-ar îndrepta mai mult atenția către această specie. Un interes sporit pentru acest fruct ar însemna și mai multă cercetare științifică pe smochin.

Continuarea cercetărilor asupra smochinului este necesară în contextul actual al încălzirii climatice și a extinderii arealului de cultură al acestei specii. Smochinul prezintă o adaptabilitate remarcabilă la factorii de mediu, dar cu toate acestea nu este răspândit decât în anumite zone ale țării.

Contribuții proprii ale autorului:

Pentru a putea finaliza cercetările necesare realizării prezentei tezei de doctorat, în perioada 2020 – 2021 s-au făcut numeroase deplasări pe teren, s-a cerut acordul proprietarilor plantațiilor private din Svinița de a fotografia și recolta fructe în mai multe perioade, s-a discutat și analizat situația plantațiilor, metodele de întreținere, pentru a putea avea cât mai multe informații utile cercetării.

Pentru a putea alege genotipuri cu fructe diverse din orașul Orșova, a fost nevoie să se identifice unde sunt plantați acești smochini și toate detaliile necesare pentru a crea un profil descriptiv cât mai precis. Cu sau fără ajutorul localnicilor a fost posibilă prelevarea de fructe de la smochinii identificați și aleși.

Analizele chimice și moleculare necesare cercetării au presupus punerea în practică a unor metode de lucru noi și complexe, duse la final cu asistența și sprijinul cadrelor didactice de la Platforma de Cercetare Interdisciplinară a USV Timișoara și a Laboratorului de Genetică Moleculară.

Elementele de originalitate principale care pot fi atribuite acestei teze de doctorat sunt:

În România, cercetarea pe smochin este limitată la ora actuală, astfel alegerea acestei specii ca obiect de studiu într-o Teză de Doctorat, în zona de Sud-Vest a României, mai precis orașul Orșova cu zonele limitrofe și localitatea Svințița poate reprezenta un element de originalitate, smochinul nefiind o specie atât răspândită în flora pomicolă autohtonă.

Asupra materialului biologic s-au realizat observații și măsurători biometrice dar mai ales determinări privind calitatea fructelor, pornind de la substanța uscată solubilă și zaharuri, până la conținutul în polifenoli și conținutul în macroelemente, prin rezultatele obținute încercând să evidențiem faptul, că deși aspectul unor fructe nu se ridică la valoarea celor provenite din import, conținutul în principii bioactivi este de multe ori superior.

Studiul interrelațiilor și al diversității fenotipice dintre unele caractere morfologice ale fructelor a arătat o omogenitate interindividuală la fructe provenite din locații diferite, la caractere cum ar fi greutatea fructului (OF3, OD1 și OD3, urmate de genotipurile OD2, ODM2 și SV1) și înălțimea fructului (ODM1 și OF3).

Primerii folosiți pentru a determina diversitatea genetică a genotipurilor studiate au făcut grupările în funcție de locația de unde a fost prelevat materialul biologic. Cele mai multe grupări de clustere au cuprins genotipuri provenite din aceeași locație, unde condițiile pedo-climatice și agrotehnica au fost similare.

SUMMARY

RESEARCH ON FRUITS' QUALITY AND GENETIC DIVERSITY OF SOME FIG GENOTYPES FROM THE SOUTH-WEST REGION OF ROMANIA

Scientific Coordinator: Prof. Univ. Dr. IORDĂNESCU OLIMPIA ALINA

PhD Student: Eng. BONA ANA

Keywords: *Ficus carica* L., fig, genotype, similarity, fruit quality, chemical attributes, molecular markers, genetic diversity, Svinița, Orșova.

The PhD Thesis entitled `*Research on Fruits` Quality and Genetic Diversity of Some Fig Genotypes from the South-West Region of Romania` is structured in two main parts: Part I. Current State of Knowledge and Part II. Own Research, followed by general conclusions and elements of originality.*

The two main parts are comprised of four chapters:

- Chapter 1. The Fig - *Ficus carica* Linn., Ficus Genus, Moraceae Family – Study of the Species;
- Chapter 2. The Evaluation of Fruit Quality Based on the External and Internal Characteristics of the Studied Fig Genotypes;
- Chapter 3. The Study of Interrelations and the Phenotypic Diversity Between some Morphological Fruit Characters of the Studied Fig Genotypes;
- Chapter 4. The Evaluation of Genetic Diversity of the Studied Fig Genotypes Using Molecular Markers.

The thesis contains 82 tables, 43 figures and 119 references.

The motivation of choosing this research subject was sustained by the fact that Orșova, the location where the majority of biological material was collected, has always stood out due to the beautiful landscape and a history marked by traditions and emotions. In the past, the city was situated only three kilometres away from the gorgeous Ada-Kaleh island (sunken in 1971 due to the construction of the Iron Gates I hydroelectric power plant), known as an exotic paradise where fig trees were thriving and from where the majority of the figs grown today in the area originate from. Growing up in Orșova, I was surrounded by figs and I have tasted the uniqueness of this wonderful fruit.

Due to the adaptation of this species to the climatic conditions of this region we have decided to collect fig genotypes that grow in the different parts of the city, and also genotypes from the Svinița village, also known as `*The Fig Country`.*

The main objective of this study was to identify some fig genotypes with distinctive fruit characteristics, in order to analyze and describe them for further selection and possible cultivation.

Physical-chemical attributes have been analysed for the both crops, the fig giving two crops every year, giving the species more economic value.

The studies were carried on during the summer and autumn of the years 2020 and 2021, when the ripe fruits were harvested and analysed.

In order to accurately characterize the chosen genotypes, were used elaborated research methods, like molecular markers for assessing genetic diversity, as well as complex chemical analyses.

CHAPTER 1, SUMMARY. The Fig - *Ficus carica* Linn., Ficus Genus, Moraceae Family – Study of the Species

In this chapter, was presented information regarding fig biology and ecology, the importance of the species and its cultivation, and the cultivation of fig worldwide and in Romania.

The geographical territory from where fig originated is considered to be the West part of Asia, the Middle East and some lands from the east part of the Mediterranean Basin, from the eastern Greece to Afghanistan, regions where fig is cultivated on large surfaces.

The fig is a warm climate species, surviving temperatures up to +40 °C, but in winter temperatures below -16 °C are deadly for the fig. In Romania, in order to survive the low temperatures during winter, the fig is protected with different materials such as hay, plastic foil or by burying.

In its place of origin, the fig grows in well drained, warm and dry sun facing soils on rocks or hills with good drainage, surrounded by sunlight.

In Romania, the fig grows as a shrub or a small tree with 4-7 stems and as a medium sized proper tree (6-7 m) in the Mediterranean Basin. Morphologically, the fig is a gynodioecious species with male plants called caprificus which bear syconus with male and female flowers and female plants that bear female flowers evolving in edible figs through pollination. Due to the fact that only the male flowers produce pollen, the fig is considered a functionally dioecious species.

The majority of fig cultivars are the results of years of selection and their propagation it is done by vegetative methods.

Even though the fig is influenced by the climatic conditions, the morphological and agronomical characteristics represent useful tools for the survival of diversity of the species.

Many molecular markers are used to determine the genetic polymorphism and a lot of research on fig genetic diversity was carried along the years.

The fig cultivation was for years an agricultural tradition in the Mediterranean region, giving economic and social benefits to the local communities. In the world economy, the fig is for centuries one of the most important species due to its ecological plasticity and the plant capacity to produce edible fruits regardless the growth conditions.

In Romania, in Svinița village, the place with the most figs in the country, takes place annually the Festival of Figs, which represents a tourist attraction for both locals and foreigners that visit along the Danube. They contribute, by purchasing the products made of figs made by the villagers, to the growth of the families' income and local economy.

CHAPTER 2, SUMMARY. The Evaluation of Fruit Quality Based on the External and Internal Characteristics of the Studied Fig Genotypes

This chapter is part of the second part of the thesis, *Own Research*, and presents the used biological material, the used research methods for fruit quality determination, as well as the results obtained following the carried studies.

The purpose of this chapter was to assess the fruit quality of the fig genotypes, based on the external and internal characteristics, through various methods of study and analysis.

The objectives of this part of the study were:

- Identifying and collecting the biological material from two locations from the South-West region of Romania, Orșova city and Svinița village;
- Photographing the trees and the fruits;
- Doing biometrical measurements on the fruits of both crops;
- Describing the fruits of the genotypes based on the guide developed by IPGRI and CIHEAM, 2003, for fig;
- Establishing fruit quality by: - describing the fruits based on their internal and external characteristics;
- analysing the chemical composition of the fruits.

The following parameters were analysed and determined:

- Fruit weight;
- Fruit diameter (width);
- Fruit size;
- Shape index;
- Fruit shape;
- Ostiole diameter ;
- Stalk shape and height;
- Peel cracks;
- Peel colour;
- Pulp colour;
- Harvest period.

The values presented in tables for these parameters are the mean of the values measured in both years of studies for the both crops.

The fruit weight (g) was determined by weighting a number of 20 fruits from both crops, on an electronic scale.

The fruit height (cm), fruit width (cm), ostiole diameter (cm) and the height of the stalk were determined by measuring with a calliper 20 ripe fruits.

The peel and pulp colour, peel cracks, fruit and stalk shape were determined by visual observation and described according to the guide for fig proposed by IPGRI and CIHEAM, 2003.

The assessment of fruit quality based on the chemical composition was done by determination of the following:

- Determination of sugar content (%);

- Determination of dry matter (DM °Bx);
- Determination of fruit moisture;
- Determination of fruit pH;
- Determination of titratable acidity (g/L citric acid);
- Determination of total polyphenol content (TPC) – antioxidant capacity;
- Determination of macro and micro-minerals.

The values presented in tables for these determinations represent both the mean values of the years 2020 - 2021 and the mean values of both crops.

Following the determinations made on the fruit physical characteristics, the genotypes were grouped based on these determinations as follows: genotypes with small fruits, purple peel and pink and reddish pulp, such as: C1, C2, C3, F1, M2, S1 and SV1, and genotypes with large and medium fruits with brown peel and amber pulp, such as: L1, SV2, SM1, IJ1 and F2.

It was observed that F3 genotype has a distinctive fruit appearance with green peel and long and curved stalk, apart from the rest of the genotypes that had short and thick stalk. Apart from the fruit size, the shape also varied but remained constant throughout the years of studies. It was observed that the fruits of the first crop are bigger in size compared to the fruits of the second crop, this being explained by the fact that the figs of first crop were actually formed in the previous season.

Because of the differences in pedo-climatic conditions, it was observed that the genotypes from Svinița (S1, SM1, SV1 și SV2) start fruiting from June until September, and the ones from Orșova start fruiting in July.

Regarding the sugar and dry matter content in the studied fig genotypes, it was observed that the majority of them accumulate high amounts. The average sugar values of both crops in the years 2020-2021, had values between 18.15 % in IJ1 genotype and 28.90 % in C3 genotype, and the DM had values between 26.76 °Bx in C3 genotype and 16.68 °Bx in IJ1 genotype.

The fruit moisture values recorded values between 84.68 % in F3 genotype and 75.16 % in C1 genotype, with an experience average of 78.77 %.

Fruit acidity recorded values between 0.32 % in SV1 genotype and 0.15 % in SV2 genotype.

The pH values didn't record much variation between the genotypes (5.84 in L1 genotype and 5.12 in S1 genotype).

Calcium and magnesium recorded the highest amount for all genotypes, compared with the rest of the macro minerals, while iron and zinc were recorded in the highest amounts from all the determined micro minerals.

Regarding the TPC it was observed that the genotypes with deep purple colour (C1, C2, C3, M2, S1, SV1 and F1) recorded higher values of phenolic compounds, the values being influenced by a higher concentration of phenols in darker skinned figs.

CHAPTER 3, SUMMARY. The Study of Interrelations and the Phenotypic Diversity between some Morphological Fruit Characters of the Studied Fig Genotypes

Chapter 3 pursued, on one hand, the study of the interrelation between some morphological characteristics of fruits in the studied fig genotypes, and on the other hand, the phenotypic diversity between the same genotypes.

The purpose of this chapter was to highlight the relationships between some morphological characters, namely the width, height and weight of the fruits with the sugar content of the studied fig genotypes.

The objectives of this chapter were:

- The analysis of the links between some morphological fruit characteristics of the studied genotypes;
- Correlating the sugar content of the fruits with their weight, height and diameter (width);
- The study of phenotypic diversity between the studied genotypes based on the fruit characteristics.

In this chapter, the studied genotypes were coded differently (according to Table no. 3.1 of the thesis), for a better understanding of the obtained results.

The variance analysis for multiple regression regarding the influence of different morphological characteristics of fruits on their sugar content in the genotypes studied showed that the values of variability in the amount of sugar in the fruit is influenced by the other characters. The values of this variability differed from one genotype to another, as follows: in genotype OF1 its value was 52.84%, with the major contribution of height and weight of the fruit (24.25-24.48%), the diameter (4.11%) had less influence on sugar content.

In genotype OF2, fruit height had a distinctly significant major influence of 71.80 % on the amount of sugar in the fruit, followed by fruit weight influencing sugar content to an extent of 19.12 %.

In the case of OF3 genotype, the fruit diameter and weight had important and significant contributions of 29.14-30.27% to the achievement of the amount of sugar in the fruit, while the effect of the height of the fruit is considerably lower (2.49%).

In OM genotype and OD3 genotype, the fruit weight had a major contribution of 60.34% and 61.41% respectively to the achievement of sugar content, while the height (18.87% and 14.98% respectively) and diameter (9.40% and 17.81% respectively) of the fruit had significant but considerably lower influences.

Regarding the influence of fruit characteristics on the sugar content of the OI genotype, fruit height had a major, distinctly significant influence of 57.82% on the achievement of the quantity of sugar in the fruit, while fruit weight and diameter had considerably lower influences (0.16-0.29%) and statistically unassured.

In OD1 and OD2 genotype, fruit height had the highest contribution (63.72% and 60.97% respectively) to sugar in the fruit, while the effect of fruit weight was considerably lower in OD1 genotype (14.88%), while in OD2 genotype the change in fruit weight was not associated with variations of sugar in fruits.

In the case of ODM1, ODM2 and OD3 genotypes, the fruit weight had a major contribution to achieving sugar content 39.40%, 45.15 and 61.41%, respectively, while fruit height influenced by 7.80% for ODM2 genotype, 29.19% for ODM1 genotype and 14.98%.

For SV1 and SV2 genotypes, fruit height contributed 87.99% and 66.29%, respectively, to the sugar content.

The highest homogeneity of the fruit weight between the studied genotypes was recorded in OF3, OD1 and OD3, followed by OD2, ODM2 and SV1 genotypes. The highest variability between the genotypes regarding the fruit height was observed in SVA2, followed by ODM1. Large amplitudes between values of this character were observed in SV2 and OM genotypes.

The greatest variability and amplitude of fruit diameter was recorded by ODM2 and OF2 genotypes. The lowest variability and amplitude between genotypes was observed OF3 and SV1.

The highest interindividual homogeneity of the fruit height was recorded in ODM1 and OF3 genotypes. The highest interindividual variability of this character was observed in SVA1 genotype, followed by OF2 genotype. The highest phenotypic similarity was manifested between genotypes whose fruits are similar in shape and size, as follows: OD2 and ODM2 (99.72%) – small fruits; OM and ODM1 (99.48%) – large fruits; OF3 and OM (99.17%) – large fruits; OD1 and ODM2 (99.11%) – small fruits; OF3 and ODM1 (98.89%) – large fruits.

A low level of similarity, respectively a high level of phenotypic diversity based on different fruit size, was found between genotypes: OF1 and SV2 (72.05%) – fruits of genotype OF1 are very small compared to those of genotype SV2; OD2 and SV2 (62.52%) – OD2 genotype has small fruits, and SV2 large fruits; ODM2 and SV2 (62.62%); OF1 and OI (57.34%).

CHAPTER 4, SUMMARY. The Evaluation of Genetic Diversity of the Studied Fig Genotypes Using Molecular Markers

The purpose of this part of the research was to determine the genetic diversity of the studied fig genotypes.

The objectives of this chapter were:

- Sampling and preparation of plant material necessary for the study;
- DNA extraction from plant material;
- Taking the necessary steps to determine genetic diversity;
- Statistical interpretation of data obtained from determining genetic diversity;
- Establishing and justifying similarity or diversity between studied genotypes.

In this chapter, the studied genotypes were coded differently (according to Table no. 3.1 of the thesis), for a better understanding of the obtained results.

After analyzing the correlations, it was concluded that the primers used to determine the genetic diversity of the studied genotypes made the groupings according to the location from which the biological material was taken. Most cluster groupings comprised genotypes originating from the same location, where pedo-climatic and agrotechnical conditions were similar.

The total number of bands generated by those primers ranged from 53 for ISSR to 193 for DAMD, resulting in an average polymorphism rate from 95.85 % for DAMD to 100 % for ISSR (Table 4.12). The average number of polymorphic bands/primer ranged from 26.5 for ISSR to 41.75 for SCoT (Table 4.12). The average number of polymorphic bands/primer ranged from 26.5 for ISSR to 41.75 for SCoT. The discrimination index (PI), which certifies the efficiency of a particular primer in detecting polymorphism, recorded values ranging from 9.807 for the ISSR to 14.577 for the SCoT, which has the highest capacity to generate polymorphic bands in the genotypes included in the study.

Following analyses carried out through the 11 primers, unique fragments of DNA were identified only in certain genotypes. Since specific alleles were identified in all fig genotypes, genotype OF2 showed the most (7), followed by genotypes OD1 and SVA2 with five specific bands, while in genotype SV1 only one such band was identified.

The determination of genetic diversity between the studied fig genotypes with the help of molecular markers has shown that this approach to characterize genotypes is an indispensable tool in identifying and preserving valuable genotypes.

The fig tree could be a species that would add to the local and national economy, if growers would turn more attention to this species. An increased interest in this fruit would mean even more scientific research based on the fig.

Further research on the fig tree is necessary in the current context of climate warming and the expansion of the growing area of this species. The fig tree shows remarkable adaptability to environmental factors, but nevertheless it is widespread only in certain areas of the country.

Author's own contributions:

In order to complete the research necessary to carry out the present doctoral thesis, between 2020 and 2021, numerous field trips were made, the consent of the owners of private plantations in Svinița was requested to photograph and harvest fruits in several periods, the situation of plantations, maintenance methods was discussed and analyzed, in order to have as much useful information as possible for completing the research. In order to be able to choose genotypes with diverse fruits from Orșova, it was necessary to identify where these fig trees are planted and all the details necessary to create a descriptive profile as accurate as possible. With or without the help of locals it was possible to take fruits from identified and chosen fig trees.

The chemical and molecular analyses necessary for the research involved the implementation of new and complex working methods, completed with the assistance and support of teachers from the Interdisciplinary Research Platform of ULS Timișoara and the Molecular Genetics Laboratory.

The main elements of originality that can be attributed to this doctoral thesis are:

In Romania, research on fig is currently limited, so choosing this species as an object of study in a PhD Thesis, in the South-West area of Romania, more precisely the city of Orșova with its surrounding areas and the Svinița village can represent an element of originality, the fig tree not being such a widespread species in the autochthonous flora.

On the biological material were made biometric observations and measurements, but especially determinations on the quality of fruits, starting from soluble dry matter and sugars, to the content in polyphenols and the content in macroelements, through the results obtained trying to highlight the fact that although the appearance of some fruits does not rise to the value of those from import, the content in bioactive principles is often superior.

The study of interrelationships and phenotypic diversity between some morphological characteristics of fruits showed interindividual homogeneity in fruits from different locations, in characters such as fruit weight (OF3, OD1 and OD3, followed by genotypes OD2, ODM2 and SV1) and fruit height (ODM1 and OF3).

The primers used to determine the genetic diversity of the studied genotypes made groupings according to the location from which the biological material was taken. Most cluster groupings comprised genotypes originating from the same location, where pedo-climatic and agrotechnical conditions were similar.