MINISTERUL EDUCAȚIEI, CULTURII ȘI CERCETĂRII
UNIVERSITATEA DE STAT „DIMITRIE CANTEMIR”
ȘCOALA DOCTORALĂ ȘTIINȚE BIOLOGICE

Cu titlu de manuscris

C.Z.U.:582.951.4(478) (643.3)

TABĂRA MARIA

DEZVOLTAREA ŞI MULTIPLICAREA MICROCLONALĂ A SPECIEI *LYCIUM BARBARUM* L. (GOJI)

164.01 – BOTANICA

Rezumatul tezei de doctor în științe biologice

Teza a fost elaborată în Laboratorul Embriologie și Biotehnologie al Grădinii Botanice Naționale (Institut) „Alexandru Ciubotaru”

CHIŞINĂU, 2020

Teza a fost elaborată în Școala doctorală Științe biologice, Universitatea de Stat „Dimitrie Cantemir” și Grădina Botanică Națională (Institut) „Alexandru Ciubotaru” membru al consorțiului academic ȘDȘB

Conducător de doctorat:

CIORCHINĂ Nina, doctor în științe biologice, conferențiar cercetător

Componența Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat:

CALALB Tatiana, doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar, USMF „Nicolae Testemițanu” – președinte
COMANICI Ion, doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar, GBNI – referent
PÎNTEA Maria, doctor habilitat în științe biologice, conferenţiar cercetător, IȘP HTA – referent
LEȘANU Mihai, doctor în științe biologice, conferențiar universitar, USM – referent
CIORCHINĂ Nina, doctor în științe biologice, conferențiar cercetător, GBNI – membru

Susţinerea va avea loc la ***5 noiembrie 2020***, ora ***15^{00}***, în ședința Comisiei de susținere publică a tezei de doctor, Sala senatului a Universităţii de Stat “Dimitrie Cantemir”, str. Academiei 3/2, Chișinău.

Teza de doctor şi rezumatul pot fi consultate la Biblioteca Ştiinţifică Centrală „Andrei Lupan” (str. Academiei 5a, Chișinău, MD 2028, Republica Moldova), Biblioteca USDC, pe pagina web a ANACEC (www.cnaa.md) și pe pagina web a USDC (http://edu.asm.md) .

Rezumatul a fost expediat la ***2 octombrie 2020***.

Conducător ştiinţific: _____ **CIORCHINĂ Nina**
dr. în șt. biol., conf. cercet.

Autor: _____ **TABĂRA Maria**

© Tabăra Maria, 2020

CUPRINS

SCOPUL ŞI OBIECTIVELE CERCETĂRII....4

CUVINTE CHEIE....6

METODOLOGIA CERCETĂRILOR ŞTIINŢIFICE....6

SINTEZA CAPITOLELOR....7

1. STAREA STUDIULUI ACTUAL PRIVIND DEZVOLTAREA ŞI MULTIPLICAREA *IN VITRO* A SPECIEI *LYCIUM BARBARUM* L.....7

2. OBIECTUL DE STUDIU ŞI METODELE DE CERCETARE....7

3. MICROPROPAGAREA ŞI DEZVOLTAREA *IN VITRO* A SOIURILOR DE GOJI ...8

3.1. Iniţierea şi stabilizarea culturilor *in vitro* a arbustului goji....8

3.2. Acţiunea citochininelor asupra ratei de multiplicare la soiurile de goji 10

3.3. Influenţa combinaţiei şi concentraţiei regulatorilor de creştere asupra ratei de multiplicare şi procesul de creştere *in vitro* la vitroculturile de goji....12

3.4. Influenţa auxinelor în procesul de creştere şi rizogeneză la soiurile de goji 13

3.5. Organogeneza *in vitro* la soiurile de goji (cultura de calus)....14

3.6. Aclimatizarea materialului săditor obţinut prin cultura *in vitro* 15

4. STUDIUL MORFO-ANATOMIC ŞI BIOCHIMIC COMPARATIV AL SPECIEI *LYCIUM BARBARUM* L. 16

4. 1. Aspecte fenologice ale arbuştilor din specia *Lycium barbarum* L. 16

4.2. Biometria organelor vegetative ale arbustului de *Lycium barbarum* L. 16

4.3. Particularităţile anatomice adaptive ale frunzelor (seră şi teren) la specia şi soiurile de *Lycium barbarum* L. 18

4.4. Studiul biochimic al frunzelor şi fructelor de *Lycium barbarum* L. din flora spontană şi cultivată 20

4.4.1. Analiza calitativă a flavonoidelor şi taninurilor 20

4.4.2. Determinarea cantitativă a compuşilor biologic activi 20

4.4.3. Analiza indicatorilor biochimici în fructele speciei *Lycium barbarum* L. spontane şi cultivate 22

CONCLUZII GENERALE ŞI RECOMANDĂRI PRACTICE....23

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ 25

LISTA SELECTIVĂ A LUCRĂRILOR ŞTIINŢIFICE PUBLICATE LA TEMA TEZEI 27

ADNOTĂRI (*engleză, română*) 28

SCOPUL ŞI OBIECTIVELE CERCETĂRII

Actualitatea şi importanţa cercetărilor. Condițiile climaterice și fertilitatea solului favorabile din Republica Moldova (R. Moldova) oferă posibilitate agricultorilor să cultive diverse specii şi soiuri agricole de o valoare înaltă. Calitatea fructelor, legumelor şi a pomușoarelor autohtone, au fost întotdeauna apreciate atât în țară, cât și peste hotarele ei. În ultimii ani s-a observat o tendință de plantare a culturilor bacifere, dar și de promovare a consumului de pomușoare [2, 27]. Extinderea diversității culturilor bacifere poate fi realizată prin introducerea de noi soiuri de arbuști fructiferi, unul din care este *Lycium barbarum* L. (goji) – aliment funcțional bogat în antioxidanţi, vitamine şi substanţe minerale importante [1, 25]. Actualmente, deşi intens studiată sub aspect alimentar şi terapeutic a fructelor, această specie este insuficient studiată din punct de vedere a dezvoltării morfobiologice și strucurale a plantei. Metodele convenţionale de înmulţire a acestei culturi (soiuri productive) nu sunt suficient de efective [28], astfel apare necesitatea introducerii unor metode noi, moderne ce ar facilita şi eficientiza acest proces. Majorarea randamentului de obţinere a materialului săditor, va fi posibil prin realizarea obiectivelor ce ţin de introducerea în cultura *in vitro* a speciei luate în studiu, fiind obținute un număr mare de exemplare sănatoase, genetic omogene de calitate superioară, într-un timp relativ scurt [3, 9].

Lycium barbarum L. fiind o specie relativ nouă, nu a beneficiat de studiul comportamentului său în cultură. Introducerea în cultură a acestei specii, este oportună, fructele proaspete ale acestui arbust fiind o adiție valoroasă la alimentația omului modern, săracă în alimente cu o calitate biologică înaltă. În R. Moldova aceste fructe sunt crescute de 26 de fermieri, iar suprafaţa terenurilor plantate cu aceşti arbuşti creşte anual [29]. Este cunoscut faptul că ramura de producere a baciferelor în R. Moldova se află la o etapă incipientă de dezvoltare, organizațiile „Pomușoarele Moldovei”, „Agricultura performantă în R. Moldova” și „Îmbunătățirea productivității în cultivarea arbuștilor fructiferi și a căpșunului” contribuie la dezvoltarea acestui sub-sector [16].

Dezvoltarea sectorului de pomușoare în R. Moldova generează o cerere mare a materialului săditor, calitatea căruia influențează și productivitatea plantelor. Pentru dezvoltarea și susținerea pepinierelor de arbuști fructiferi, care comercializează material săditor de soiuri valoroase de calitate, un remediu ar fi multiplicarea plantelor utilizând diverse metode moderne, în special cultura *in vitro*, care asigură obţinerea plantelor sănătoase, rezistente la boli cu o creştere mai rapidă decât cele obținute prin metode de înmulțire convenționale.

Cercetările corelative de micropropagare, fenologice, biochimice și anatomice expuse în acestă lucrare pot servi ca suport metodologic în dezvoltarea industriei agro-alimentare, farmaceutice și cosmetice bazate pe materia primă autohtonă.

Scopul lucrării constă în elaborarea tehnologiei de multiplicare *in vitro* a speciei *Lycium barbarum* L., evidențierea particularităților biomorfologice şi estimarea biochimică comparativă ale speciei spontane şi soiurilor cultivate în condiţiile pedoclimatice ale R. Moldova.

În conformitate cu scopul propus au fost desemnate următoarele **obiective:**

- identificarea, mobilizarea soiurilor de goji și evidenţierea explantelor adecvate pentru inițierea culturilor *in vitro*;
- selectarea mediilor nutritive, optime pentru fiecare etapă de microclonare;
- analiza biologiei dezvoltării plantelor obținute, în condițiile *in vitro*, *ex vitro* și în teren experimental;
- studiul anatomic și evaluarea biochimică comparativă a conţinutului de flavonozide, taninuri, şi acid ascorbic la plantele de *L. barbarum* L. din flora spontană şi soiurile de goji cultivat;
- elaborarea tehnologiei de micropropagare şi descrierea protocolului de obţinerea unui coeficient înalt de înmulțire la soiurile goji și extinderea genofondului de arbuşti fructiferi din cadrul Grădinii Botanice Naționale (Institut) „Alexandru Ciubotaru”, (iniţierea colecției).

Noutatea şi originalitatea ştiinţifică. Pentru prima dată în R. Moldova s-a realizat înmulţirea plantelor de goji prin tehnici şi metode de micropropagare eficiente pentru producerea de material săditor robust necontaminat și genetic uniform. S-au optimizat microtehnicile de cultivare *in vitro* ale organogenezei și calusogenezei la soiuri de goji de perspectivă. S-a efectuat studiul biologic complex la soiurile de goji, (morfologic, anatomic, biochimic) comparativ cu specia din flora spontană autohtonă în condiţiile pedoclimatice ale R. Moldova.

Semnificaţia teoretică. Rezultatele cercetărilor biotehnologice îmbogățesc informaţia ştiinţifică, privind studiile de microclonare și micropropagare a plantelor de goji, bazată pe principiul totipotenței celulare în culturile *in vitro* pentru regenerarea vitroplantulelor. De asemenea, acest studiu vizează particularitățile biologice de creștere și dezvoltare ale plantelor în baza aspectelor, fenologice, biometrice, anatomice și biochimice în condițiile pedoclimatice pe teritoriul R. Moldova, date care ar contribui la instruirea corespunzătoare a agricultorilor cu privire la folosirea soiurilor rezistente la secetă şi de calitate înaltă.

Valoarea aplicativă a lucrării. Ca rezultat al cercetărilor științifice a fost elaborat și descris detaliat protocolul de obținere a materialului săditor sănătos și omogen la soiuri de goji pentru R. Moldova. Rezultatele cercetărilor sunt utilizate în Laboratorul de Embriologie și Biotehnologie al GBNI. Materialul săditor obținut a servit ca sursă pentru a iniția crearea colecției din 5 soiuri de

goji în GBNI: ’Amber Sweet’,’Erma’, ’Ning Xia N1’, ’New Big’, şi ’Licurici’ – soi ameliorat de către cercetătorii ştiinţifici ai Laboratorului de Embriologie și Biotehnologie al GBNI, (în prezent soiul se află la comisia de testare CSTSP). Plantele de goji multiplicate *in vitro* pot servi în calitate de material săditor pentru înființarea plantațiilor moderne de goji pe arii extinse în R. Moldova. Rezultatele studiului pot fi incluse în procesul didactic la specialitățile: Botanică, Ecologie, Farmacie şi în instituțiile de învățământ cu profil agricol.

Implementarea rezultatelor ştiinţifice. În baza cercetărilor științifice efectuate au fost implementate metodele de multiplicare *in vitro* a speciei *L. barbarum* L. aplicate în contracte economice realizate în Laboratorul de Embriologie și Biotehnologie. Rezultatele studiilor obținute fenologice și biochimice vor îmbogăți spectrul sectorului de pomușoare existente în R. Moldova. Totodată, acestea reprezintă material ştiinţifico-didactic pentru cursurile: *Botanică aplicată, Botanică farmaceutică, Chimie biologică* şi în instituțiile de învățământ cu profil biologic și agricol, precum și realizarea de contracte cu beneficiari particulari, gospodării țărănești și amatori interesați de cultivarea soiurilor de goji.

Publicaţiile la tema tezei. Rezultatele obţinute sunt reflectate în 21 lucrări ştiinţifice: 3 articole în reviste naţionale recenzate (dintre care 2 fără coautori), 9 articole în culegeri științifice naţionale (dintre care 1 peste hotare), 7 comunicări în cadrul unor manifestări ştiinţifice naţionale şi internaţionale, 1 cerere de brevet pentru soi de plantă.

CUVINTE CHEIE

Lycium barbarum L., cultura *in vitro,* microclonare/micropropagare, calusogeneză, rizogeneză, aclimatizare, soiuri de goji, fenologie, anatomie, biochimie.

METODOLOGIA CERCETĂRILOR ȘTIINȚIFICE

Studiul ştiinţific şi metodologia cercetării, care însumează un număr impunător de metode și tehnici, selectate în cadrul acestui studiu a permis realizarea obiectivelor propuse. Analiza complexă, privind multiplicarea microclonală la specia *L. barbarum* L., creşterea şi dezvoltarea plantei *in vitro* şi *ex vitro* a fost realizat cu aplicarea metodelor de micropropagare a plantelor și tehnici de preparare a mediilor de cultură. Investigațiile privind procesele biologice de creștere și dezvoltare ale plantelor în condițiile climaterice a R. Moldova s-au realizat utilizând metode morfologice, anatomice și biochimice. Cercetările prezentate au fost realizate în cadrul proiectului instituțional 15.817.02.26A (2015 – 2019) „*Fundamentarea științifică privind elaborarea tehnologiilor de înmulțire in vitro a speciilor valoroase de interes economic pentru R. Moldova*”, cu continuarea investigațiilor în proiectul din cadrul Programei de Stat 2020 – 2023 (20.80009.7007.19) „*Introducerea și elaborarea tehnologiilor de cultivare convenționale și microclonale a speciilor de plante lemnoase noi*”.

SINTEZA CAPITOLELOR

În **Introducere** se abordează actualitatea și importanța problemei; determinate scopul și obiectivele tezei, descrisă noutatea științifică a rezultatelor obținute, importanța teoretică și valoarea aplicativă a lucrării, aprobarea rezultatelor și sumarul compartimentelor tezei.

1. STAREA STUDIULUI ACTUAL PRIVIND DEZVOLTAREA ȘI MULTIPLICAREA *IN VITRO* A SPECIEI *LYCIUM BARBARUM* L.

Capitolul cuprinde o analiză a celor mai recente date din literatura de specialitate, privind valoarea speciei în aspect biochimic, taxonomic, originea și aria geografică de răspândire şi cultivare a speciei *L. barbarum* L. Tot aici sunt descrise tehnologiile de înmulţire *in vitro* recunoscute în lume, îndeosebi la arbuştii fructiferi. În cadrul capitolului, o atenție deosebită a fost acordată studiului referitor la exigențele culturii față de factorii pedoclimatici și corespunderea cadrului natural din țara noastră (cerinţele faţă de sol, condițiile de temperatură și cantitatea de precipitații, cerinţele faţă de lumină şi caracteristicile ecologice) ce va contribui la instruirea corespunzătoare a horticultorilor, cu privire la adaptarea caracteristicilor agro-pedo-climatice ale R. Moldova.

2. OBIECTUL DE STUDIU ȘI METODELE DE CERCETARE

Activitățile experimentale realizate în scopul de elaborare a tehnologiei eficiente de micropropagare la speciei *L. barbarum* L. pentru producerea de material săditor şi estimarea particularităţilor morfologice şi biochimice a speciei spontane şi soiurilor cultivate au fost realizate în Laboratorul Embriologie şi Biotehnologie al Grădinii Botanice Naționale (Institut) ”Alexandru Ciubotaru”. Investigațiile prin metode biochimice au fost realizate în Laboratoarele Farmacognozie și Botanică farmaceutică a Universității de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu” şi Biochimia plantelor, Institutul de Genetică, Fiziologie şi Protecţia Plantelor, în decursul anilor 2016 – 2019.

Materialul de studiu. În calitate de material biologic au servit soiurile de goji: ’Ning Xia N1’, ’Erma’, ’New Big’, ’Amber Sweet’, ’Licurici’ și specia *L. barbarum* L. (cătina de gard) din flora spontană a R. Moldova.

Metode de cercetare. Cercetările de multiplicare *in vitro*, au fost elaborate prin procedee de sterilizare a veselei, mediilor de cultură şi materialului vegetal, pregătirea şi testarea mediilor de cultură, menţinerea culturii de *L. barbarum* L. în condiţii *in vitro* și transferul vitroplantulelor din condiţiile *in vitro* în *ex vitro*. Analiza adaptării soiurilor la condițiile pedoclimaterice ale țării, s-a efectuat prin examinări: fenologice/biometrice cu privire la creşterea: *înălţimea plantelor, numărul*

de ramuri pe plantă, *lungimea ramurilor pe plantă* şi *numărul de frunze pe plantă*, studiul fitochimic şi anatomic a soiurilor cultivate 'Ning Xia N1', 'Erma' şi 'Licurici' comparativ cu frunzele şi fructele plantelor din flora spontană [4, 10, 14].

Prelucrarea şi interpretarea statistică a datelor s-a realizat prin teste de semnificație statistică (ANOVA, *Bonferroni*, testul *Duncan*) ce permit prezentarea și interpretarea clară a rezultatelor statistice de prelucrarea datelor.

3. MICROPROPAGAREA ȘI DEZVOLTAREA *IN VITRO* A SOIURILOR DE GOJI

Cunoaşterea tehnicilor de micropropagare a plantelor horticole, explorează un domeniu de avangardă al horticulturii şi agriculturii ce este primordial în obţinerea unui material săditor cu înaltă valoare biologică ce răspunde unor criterii importante. Principalele avantaje sunt: rata de multiplicare imensă, uniformitate genetică, calitate, fiind totodată şi o metodă de eliberare de agenţi patogeni a materialului săditor. În acest sens s-a urmărit elaborarea tehnologiei optimizate de multiplicare *in vitro* bazate pe metode simple, accesibile, eficiente, utilizate în prezent pe scară largă în domeniul micropropagării, respectiv minibutăşirea *in vitro* [13].

Primul obiectiv de obţinere a unei eficienţe sporite de material săditor de micropropagare a soiurilor de goji: 'Ning Xia N1', 'Erma', 'New Big', 'Amber Sweet' şi 'Licurici', a fost stabilirea mediilor de bază şi a diverselor combinaţii a regulatorilor de creştere în cultura *in vitro* pentru etapele de: iniţiere, multiplicare şi rizogeneză *in vitro*, utilizând mediile nutritive de bază cu balanța hormonală de citochinine, auxine şi mai puţin gibereline. S-au studiat medii pentru inducerea morfogenezei şi calusogenezei la soiurile de goji, fructele cărora au valoare nutrițională pentru consumatori și importanță economică pentru producători și țară.

3.1. Inițierea şi stabilizarea culturilor *in vitro* a arbustului goji

Faza de iniţiere şi stabilizare a culturilor *in vitro* presupune, sterilizarea materialului biologic, izolarea explantelor şi inocularea acestora pe un mediu de iniţiere. Materialul biologic a fost prelevat de la plante-donor, din colecția GBNI.

Prelevarea explantului. Explantele au fost prelevate de la plantele tinere. Pentru obținerea unor plantule viguroase în cultura *in vitro*, o conditie esenţială este dirijată de: alegerea bună a explantului ce se caracterizeaza printr-un echilibru biochimic dependent de varsta plantei donor, de stadiul fiziologic al acesteia, de organul la al carui nivel a fost efectuată prelevarea precum structura şi dimensiunile explantului prelevat [3]. În calitate de explante au fost testate: meristeme apicale cu primordii foliare, meristeme apicale, fragmente de lăstar, fragmente de limb foliar şi fragmente de rădăcini.

Asepsizarea materialului biologic. Eficientizarea asepsizării materialului biologic s-a realizat prin testarea agenților sterilizanți precum: hipocloritul de natriu, hipocloritul de calciu, alcoolul etilic, clorura mercurică. Cea mai mare pondere s-a dovedit a fi clorura mercurică cu o rată de viabilitate a plantulelor 85%. Utilizarea clorurii de mercur (0,01%) în calitate de reagent aseptic, timp de expunere de 7 minute, pentru meristeme apicale şi meristeme apicale cu primordii foliare, succedată de clătiri cu apă autoclavată și soluție de 3% de peroxid de hidrogen (H_2O_2), pentru soiurile cercetate. În același timp, ceilalţi agenţi sterilizanţi s-au dovedit a fi necorespunzători întrucât au aparut infecţii de origine micotică şi bacteriană.

Mediul de cultură. S-au testat două variante a mediului nutritiv cum ar fi: MS (Murashige-Skoog) şi B5 (Gamborg) suplinit cu regulatorul de creştere BAP în concentrație de 0,1 mg/l și 0,2 mg/l: V1 – *MS modificat, lipsit de regulatori*; V2 – *B5 modificat, lipsit de reglatori de creştere*; V3 – *MS+BAP (0,1 mg/l)*; V4 – *MS+BAP (0,2 mg/l*; V5 – *B5+BAP (0,1 mg/l)*; V6 – *B5 BAP (0,2 mg/l)* (Figura 3.1).

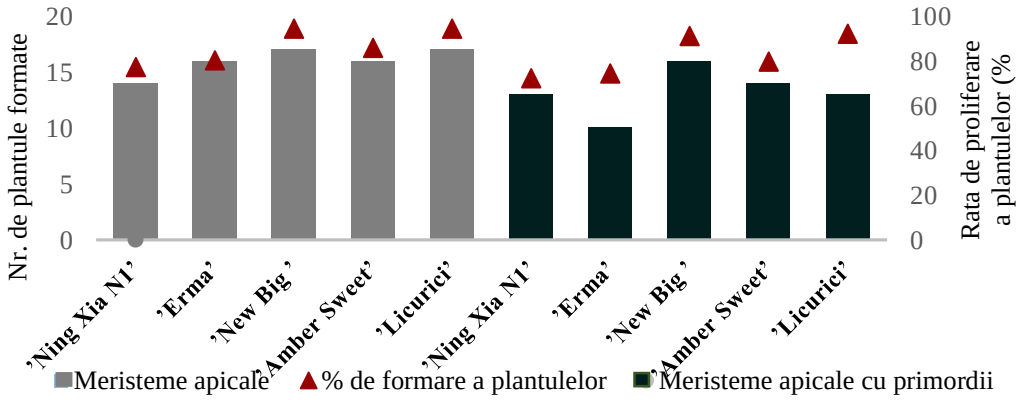

Fig. 3.1. Influența mediului V4 asupra procesului de inițiere *in vitro*

Notă: V4 – Murashige-Skoog suplinit cu citochina BAP 0,2 mg/l

Datorită fenomenelor evidente de vitrificare şi apariţia culorii violete la nivelul frunzelor şi tulpinelor plantulelor, mediile MS şi B5 au fost modificate concentraţiile de inozitol 50 mg/l. Astfel, la soiul 'Ning Xia N1', rata medie de iniţiere calculată la sfârşitul celor 30 zile a indicat obţinerea unui număr de 14 plantule iniţiate din meristeme apicale şi 13 plantule din meristeme cu primordii foliare. La soiul 'Erma' şi soiul 'Amber Sweet', prin utilizarea aceluiaşi mediu de cultură a fost obţinut un număr de 16 plantule iniţiate din meristeme apicale şi 10 plantule din meristeme cu primordii foliare. Soiurile 'New Big' şi 'Licurici' acelaşi mediu de cultură a fost obţinut un număr maxim de 17 plantule iniţiate per final.

Concluzionând asupra rezultatelor de mai sus, putem afirma că există o strânsă corelaţie între mediul de cultură şi aportul regulatorilor de creştere în procesul de iniţiere a culturii *in vitro*, influenţate într-o măsură mai mică de organele donatoare. Astfel, în dependență de scopul propus

au fost utilizate următoarele medii: medii pentru microclonare (proliferarea lăstarilor) și micropropagare plantulelor; medii pentru rizogeneza plantulelor (Tabelul 3.1).

Tabelul 3.1. Combinaţiile şi concentraţiile regulatorilor de creştere utilizaţi, pentru inducerea microclonării, stimulării alungirii şi rizogenezei la soiurile de goji

MS 100% Fitohormoni (mg/l)	Variante medii												
	Microclonare							Stimularea alungirii lăstarului şi rizogenezei					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13
Citochinine, mg/l:	0,5	0,7	-	-	0,2	0,2	0,2	-	-	-	-	-	
BAP			0,5	0,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KIN													
Auxine, mg/l:	-	-	-	-	0,2	-	-	-		0,2	0,5	-	-
AIB													
AIA	-	-	-	-	-	0,2	-	0,2	0,5	-	-	-	-
ANA	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	0,2	0,5
Giberiline,mg/l:	-	-	-	-	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-
GA_3													

Notă: **MS** – mediul Murashige&Skoog, (1962); **BAP** – benzil aminopurină; **Kin** – kinetină; **ANA** – acid alfa-naftil acetic; **IBA** – acid indolil butiric; **AIA** – acid idolil acetic; **GA_3** – acid giberelic

3.2. Acţiunea citochininelor asupra ratei de multiplicare la soiurile de goji

Multiplicarea la scara comercială a unui număr mare de specii de plante prin tehnici de cultură *in vitro* reprezintă una dintre aplicaţiile de succes ale acestei tehnologii, practicată în numeroase laboratoare şi apreciată pe piaţa globală ca o industrie extrem de profitabilă. Influenţa compoziţiei mediului de cultură asupra ratei de multiplicare constituie o etapă deosebit de importantă în fluxul tehnologic *in vitro* [7]. Faza de multiplicare se realizează pe mai multe subculturi cu o durată de 3 – 4 săptămâni. Astfel, următorul aspect principal este consacrat creşterii ratei de multiplicare în condiţiile menţinerii stabilităţii genetice a materialului biologic

Influența citochininelor asupra ratei de multiplicare *in vitro,* servesc la menținerea viabilității celulelor, susținând capacitatea de supraveţuire a explantelor inoculate, favorizând formarea și creșterea lăstarilor. Prin urmare s-a realizat, mărirea cantității de citochinine din mediu pentru dezvoltarea mugurilor laterali, adventivi și proliferarea rapidă din ei a lăstarilor. Pentru testarea răspunsului la prezenţa citochininelor în mediul de cultură, au fost utilizaţi fitoregulatorii BAP şi KIN, care conform literaturii de specialitate [35] prezintă interes, graţie acţiunii sale extrem de efective asupra creşterii şi dezvoltării explantelor de goji în cultura *in vitro.* Astfel, au fost testate patru variante de medii nutritive cu concentraţii: (0,5 mg/l; 0,7 mg/l) de fiecare citochinină. Rezultatele privind influenţa mediului de bază asupra numărului de lăstari obţinuţi după 20 și 35 de zile, relevant în acest sens fiind diferenţa de la 2 lăstari până la 8 lăstari

formaţi per explant iniţial calculată între variantele experimentale definite de mediul MS, respectiv cu concentrații de (0,5 mg/l; 0,7 mg/l) de citochininele BAP şi KIN la toate soiurile studiate. Vigoarea mai ridicată a lăstarilor multiplicaţi pe variantele experimentale caracterizate de mediul nutritiv suplinit cu citochinina BAP de (0,5 mg/l) (Figura 3.2).

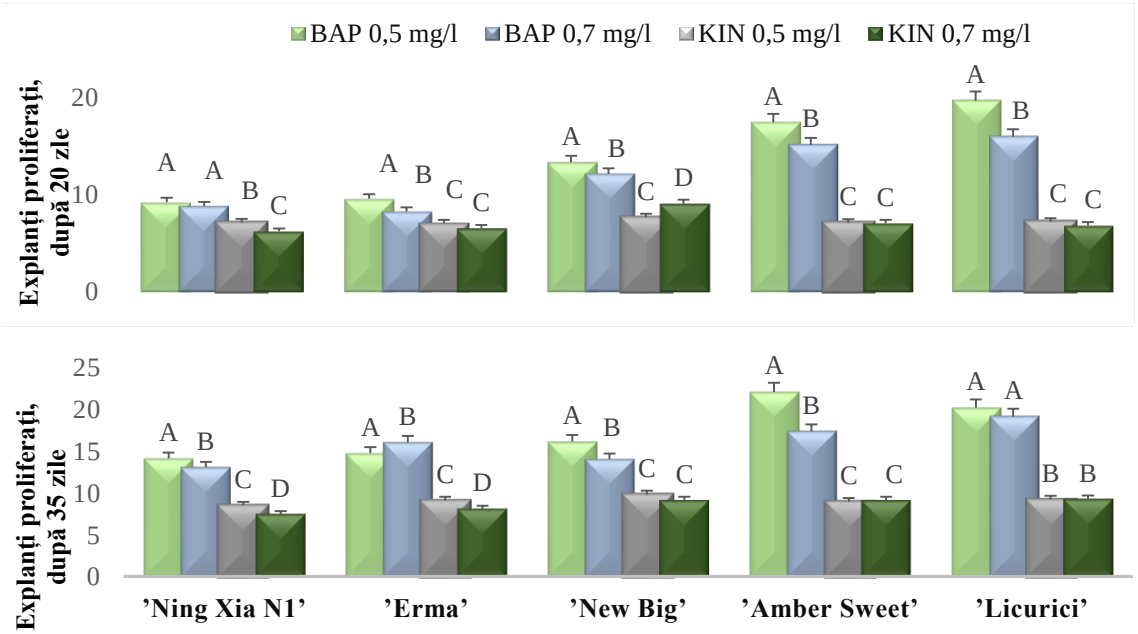

Fig. 3.2. Proliferarea şi microclonarea lăstarilor de goji pe mediul de bază nutritiv MS cu diferite concentrații de citochinine BAP şi KIN (mg/l).

Notă: analiza statistică realizată prin ANOVA, (barele reprezintă abaterea standard; A, B, C: interpretarea semnificaţiei diferenţelor, cu ajutorul testului Duncan, ($p<0,05$) dintre soiuri.

Determinarea numărului mediu de lăstari formaţi per explant iniţial variază de la (20,17) la soiul 'Licurici' până la (22,06) soiul 'Amber Sweet'. Deşi la soiurile 'Ning Xia N1', 'Erma'şi 'New Big', numărul de lăstari nu diferă esențial (14,11; 14,72; respectiv 16,11), aceste diferențe sunt statistic semnificative ($p<0,05$). Înălțimea plantulelor dupa 20 zile se evidențiază la 'Amber Sweet' (4,09 cm), cu diferenţe semnificative față de toate soiurile. 'Amber Sweet' 'New Big' și 'Licurici'au plantulele cele mai înalte (4,26, 4,04 și respectiv 4,01 cm; $p<0,05$), comparativ cu soiurile 'Erma' și 'Ning Xia N1', ce se diferențiază statistic cu plantule mai scurte respectiv unde înălțimea tulpiniţei atinge (3,25 și 3,17 cm) după 35 de zile (Figura 3.3). Ca rezultat al investigațiilor efectuate, s-a evidențiat faptul că, odată cu diminuarea concentrației de citochinină BAP la 0,5 mg/l, lungimea lăstarului se extinde, iar cu sporirea concentrației BAP-ului de 0,7 mg/l scade nesemnificativ înălţimea lăstarului, aceeași legitate se evindențiază și la citochinina KIN de aceleaşi concentrații.

În concluzie, suplinirea citochininei BAP în mediul MS cu concentraţiile mici, influenţiază semnificativ formarea lăstarului, dar inhibă alungirea rădăcinii [8].

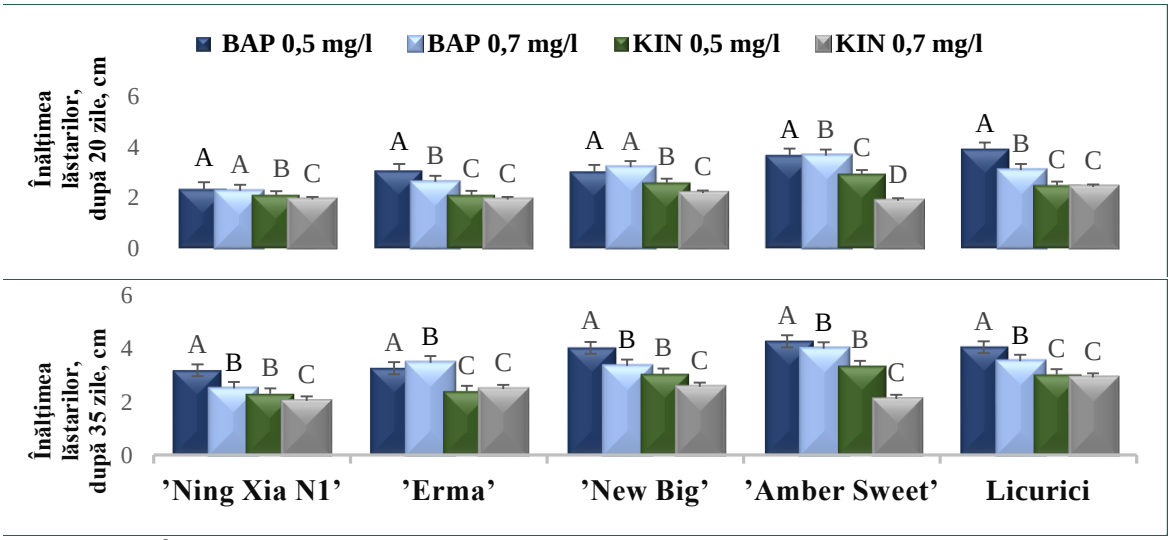

Fig. 3.3. Înălţimea (cm) lăstarilor pe medii suplinite cu citochininele BAPşi KIN

Notă: analiza statistică realizată prin ANOVA, (barele reprezintă abaterea standard; A, B, C, D: interpretarea semnificaţiei diferenţelor, cu ajutorul testului Duncan, $p<0,05$) dintre soiuri.

3.3. Influenţa combinaţiei şi concentraţiei regulatorilor de creştere asupra ratei de multiplicare şi procesul de creştere *in vitro* la vitroculturile de goji

Combinaţia sinergetică a auxinei, citochininei şi giberilină (GA_3) promovează procesele de organogeneză la explantele cultivate *in vitro* prin influențarea proceselor fiziologice [18]. Combinațiiile a trei tipuri de regulatori de creștere: citochinine, auxine şi giberiline (BAP+AIB+GA_3, BAP+AIA+ GA_3, BAP+ANA+GA_3) fiecare fiind suplimentat cu diverse concentraţii de 0,3+0,2+0,1 mg/l, au a dat rezultate optimale privind rata de multiplicare

Cele mai înalte rezultate s-au obținut pe mediul M6 cu balanţa hormonală compusă din 0,2 BAP mg/l + 0,2 ANA mg/l +0,1 GA_3 mg/l, care a avut un efect semnificativ ($p<0,05$, conform testului Duncan) asupra ratei de micropropagare faţă de celelate combinaţii de fitohormoni. Numărul mediu de lăstari proliferați per explant inițial a fost ridicat la valori de (4,56 și 4,94) pentru soiurile'Ning Xia N1' şi 'Erma', cea mai sporită proliferare de lăstari se evidențiază la soiurile 'New Big' de (6,94), urmat de 'Amber Sweet' (5,06) şi 'Licurici' (5,22). Combinaţia regulatorilor de creştere pe mediul M5 a influenţat pondere scăzută de proliferare a lăstarilor pentru toate soiurile studiate generând în mediu 2 – 4 lăstari, cu o lungime de 1,68 – 2,3 cm. (Figura 3.4).

Concentraţia balanţei hormonale a mediului M7 a relevat o pondere mai scăzută faţă de mediile M5 şi M6. Asfel, proliferarea lăstarilor prezintă diferenţe statistic semnificative ($p<0,05$) soiul 'Licurici' în mediu de 5,22 de lăstari, față de soiurile 'Amber Sweet', 'New Big', 'Erma' şi 'Ning Xia N1' (2,78; 2,61; 2; 1,61 lăstari). Lungimea minimă s-a constatat la soiul 'Ning Xia N1' de 2 cm per explant și soiurile 'Amber Sweet' şi 'New Big' cu o lungime 2,52 cm şi 2,78 cm. Soiul 'Licurici' a dezvoltat o creștere maximă a lăstarului de 3,61 cm.

Generalizând datele obținute în studiu menționăm că prin experimentele efectuate a trei tipuri de regulatori din grupul citochininelor, auxinelor, giberelinelor, a fost creată o balanță hormonală în raport de 2:2:1 semnificative pentru $p<0,05$ (conform testului Duncan), folosind ca explante inițiale meristeme din mugurii apicali şi laterali.

Putem afirma că rezultatele obţinute de noi sunt similare celor raportate de alţi cercetători, care au sugerat pentru micropropagarea goju-lui aceleaşi combinaţii ale regulatorilor de creştere [22].

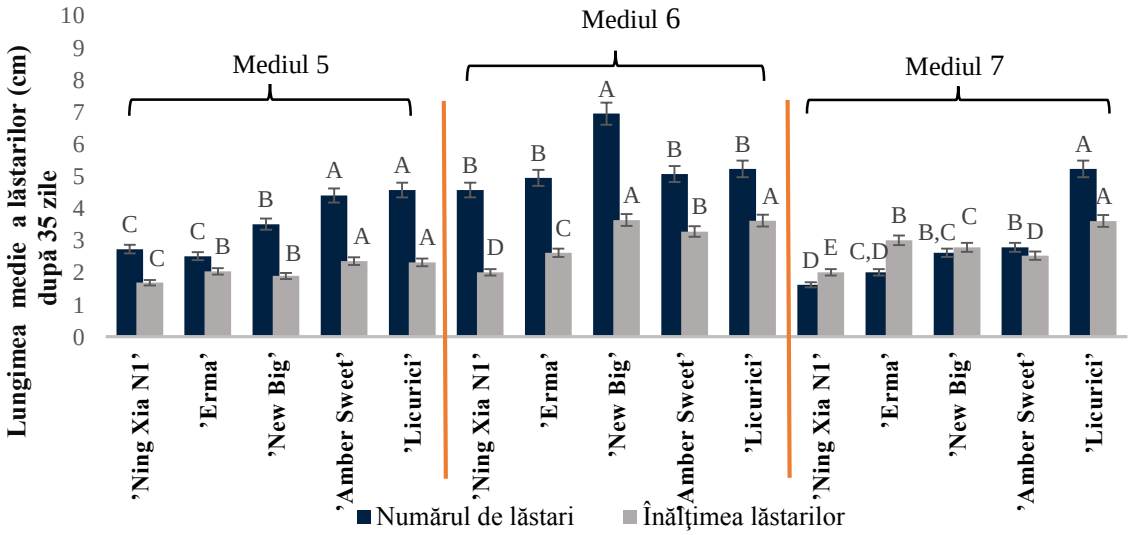

Fig. 3.4. Influenţa combinaţiei şi concentraţiei hormonilor de creştere asupra creşteri şi proliferări *in vitro* la soiurile de goji

Notă: **Mediul 5** – BAP (0,2 mg/l) +AIB (0,2 (mg/l) + GA_3 0,1 (mg/l); **Mediul 6** – BAP (0,2 mg/l)+ANA (0,2 mg/l) + GA_3 (0,1 mg/l); **Mediul 7** – BAP (0,2 mg/l) +AIA (0,2 mg/l) + GA_3 (0,1 mg/l).
analiza statistică realizată prin ANOVA, (barele reprezintă abaterea standard; A, B, C, D: interpretarea semnificaţiei diferenţelor, cu ajutorul testului Duncan, $p<0,05$) dintre soiuri.

3.4. Influența auxinelor în procesul de creștere și rizogeneză la soiurile de goji

La etapa de microclonare au predominat auxinele, citochininele şi giberilinele în concentraţii mici, iar în ceea ce privește etapa de rizogeneză se recomandă reinstalarea dominaţiei apicale la nivelul tulpinilor generate *in vitro* şi înrădăcinarea acestora prin suplinirea mediului de baza cu auxine [12]. Pornind de la ipoteza, că mediul de cultură utilizat pentru multiplicarea lăstarilor derivaţi din meristeme poate să influenţeze semnificativ procesul de rizogeneză *in vitro*, experienţele care au vizat determinarea capacităţii de înrădăcinare a vitroplantelor, au fost organizate în funcţie de mediul de multiplicare.

Inducerea procesului de rizogeneză. Pentru inducerea sistemului radicular, s-a testat mediul de bază MS 100% şi MS 50%, lichid şi agarizat suplimentat cu concentraţii reduse de regulatori de creştere din grupul auxinelor AIB, AIA, ANA, de 0,2 mg/l şi 0,5 mg/l.

Rezultatele obţinute au scos în evidenţă o corelaţie pozitivă între compoziţia minerală a mediului de bază MS 100% folosit pentru multiplicarea explantelor şi capacitatea lăstarilor de

înrădăcinare la soiurile: ’Ning Xia N1’, ’Erma’, ’New Big’, ’Amber Sweet’ şi ’Licurici’ cu o rată de înrădăcinare cuprinse între 40,3 – 100 % [31]. Analiza datelor prezentate cu privire la influenţa concentraţiilor de auxine în mediul de cultură asupra ratei de înrădăcinare mediul M12, se evidenţiază semnificativ cu peste 95% pentru toate soiurile de goji (Figura. 3.5).

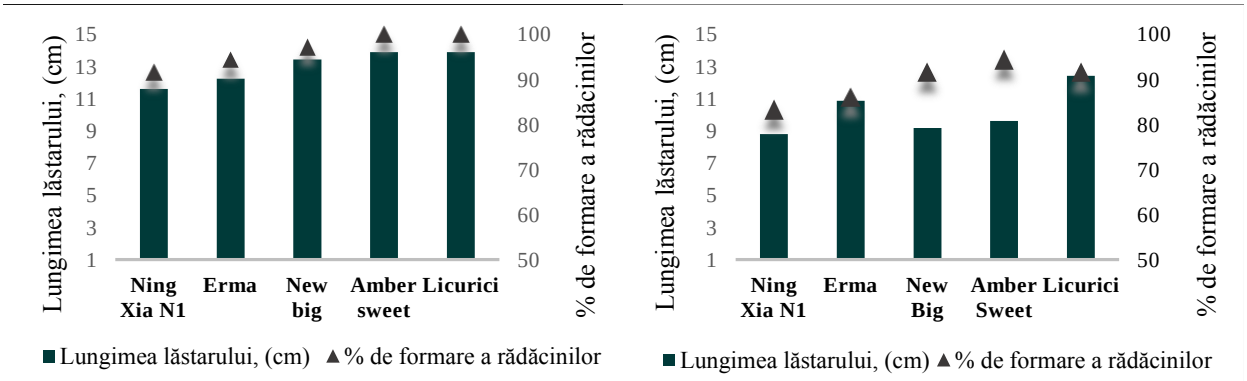

Fig. 3.5. Capacitatea de înrădăcinare a soiurilor de goji pe mediul MS 100%, ANA de 0,2 mg/l (stânga) şi 0,5 mg/l (dreapta)

În cazul plantulelor regenerate pe varianta de mediu M10 şi M11, creşterea concentraţiei AIA de la 0,2 la 0,5 mg/l a determinat o rată de înrădăcinare de 46%, respectiv 73,3 %. Pe mediu M12 s-a observat iniţierea rădăcinuţelor în decurs de 14 zile de la transferul *in vitro*, iar peste 20 – 25 de zile se remarcă o creştere considerabilă a plantulei, care deja poate fi folosită ca material de butăşire pentru o pasare ulterioară, iar partea inferioară a plantulei o transferăm la *ex vitro*. Mediul suplinit cu AIB cu aceleaşi concentraţie de 0,2 mg/l a prezentat valori ale ratei de înrădăcinare cuprinse între 40,4% şi 74,6% [30].

Mediul nutritiv MS 50% suplinit cu auxina ANA de 0,2 mg/l, s-a realizat pentru conservare, pe o anumită perioadă. Înrădăcinarea îndelungată a soiurilor cercetate, după 30 de zile a depăşit doar 16%, iar o creştere sporită a procesului de înrădăcinare de peste 90%, s-a înregistrat după 60 de zile. O altă metodă de conservare este micropropagare prin culturi de microbutaşi. Odată ce lăstarul a atins lungimea de 10,0 – 12,0 cm este supus butăşirii şi transferat pe alt mediu nutritiv pentru micropropagare ulterioară.

3.5. Organogeneza *in vitro* la soiurile de goji (cultura de calus)

Majoritatea plantelor cultivate, în special acelea, care se înmulţesc vegetativ, frecvent se infectează, provocate de viruşi şi de microorganisme patogene. Bolile plantelor conduc la micşorarea productivităţii şi calităţii lor. Pe lângă utilizarea culturii de meristeme, o altă metodă de însănătoşire a plantelor, aplicată pe larg la multe culturi, constă în multiplicarea clonală cu

folosirea culturii de calus. Prin cultura de calus au fost înmulţite şi alte specii horticole: *Actinidia arguta, Rubus idaeus, Rubus fruticosus, Fragaria sp.* etc [20, 26, 34].

Au fost experimentate şapte variante de medii nutritive cu concentraţiile: martor (0 mg/l); citochinina: BAP (0,1 mg/l; 0,3 mg/l) şi auxina: 2,4D (0,3 mg/l; 0,5 mg/l; 1,0 mg/l). Inducerea calusogenezei şi regenerării de lăstari din calus la soiurile de goji ’Ning Xia N1’, ’Erma’, ’New Big’, ’Amber Sweet’ şi ’Licurici’, a fost iniţiată din fragmente de peţiol (5 – 7 mm lungime), şi fragmente de frunză (3 – 5 mm diametru), recoltate de la plantule regenerate *in vitro*.

Procesul organogen la goji. Calusul dezvoltat din disc a limbului foliar şi segmente de peţiol pe mediile experimentale M_1 – M_7, în diferite combinaţii şi concentraţii a regulatorilor de creştere în mediile de cultură a indus proliferarea celulară, evidenţiată iniţial, prin deformarea explantelor somatice, ce variază ca formă, culoare şi consistenţă. Un calus friabil, morfogen a fost bine dezvoltat după aproximativ 40 – 45 zile de la inocularea *in vitro* a explantelor somatice. Deoarece scopul propus de noi este nu doar obţinerea calusului propriu-zis, dar nemijlocit proliferarea lui, cel mai bine răspunde la calusogeneză fragmentete de peţiol, pe mediul M_6 cu adaos 2,4D (1,0 mg/l) în combinaţie cu BAP (0,1 mg/l), cu o valoare de 100 %, iar din disc de limb foliar un procent mediu de 55,7% pentru toate soiurile de goji.

Explantele din fragmente de peţiol cultivate pe mediul M_6, s-au gofrat şi s-au mărit în dimensiuni după 14 – 20 zile de la inoculare, formând astfel o rozetă a câte 6 – 8 minilăstari. Asfel, proliferarea calusului este diferită, în funcţie de cultivarul analizat. Cea mai bună proliferare a fost observată în cazul cultivarului ’New Big’ cu un număr maxim de lăstari de 8,22 urmat de cultivarele ’Erma’, ’Licurici’, ’Amber Sweet’ cu un numar mediu (7,17; 7,50; 7,94) de lăstari proliferaţi şi valori minime înregistrează cultivarul ’Ning Xia N1’ de 6,83 lăstari. Generarea plantulelor, din limb foliar la soiurile ’Ning Xia N1’ cu un număr mediu de 1,89 lăstari, ’Licurici’ 3,28 lăstari şi ’Amber Sweet’ cu în număr mediu de 3,39 lăstari, pentru soiurile ’Erma’ şi ’New Big’ dezvoltarea de lăstari a fost nulă.

Plantulele obţinute din masă calusală, pe mediul M_6 sunt sănătoase, robuste, viguroase, nu se contaminează în cultura *in vitro* după pasări ulterioare şi nici la transfer *ex vitro* [19]. Plantele regenerate purtau trăsături morfologice normale ca şi planta donor.

3.6. Aclimatizarea materialului săditor obţinut prin cultura *in vitro*

Aclimatizarea *ex vitro* este etapa finală a micropropagării. În această fază se efectuează trecerea treptată a plantulelor de la condiţiile de viaţă artificiale, la condiţiile obişnuite din seră (*ex vitro*) sau câmp, apropiate de condiţiile naturale. Aclimatizarea plantulelor de goji s-a realizat prin metode clasice în două etape timp de 30 – 40 zile. *I etapă*: V1 – alcătuit din sol de gazon, turbă,

perlit, nisip, mraniță (pământ de frunze) în proporţii de 1:0,5:0,25:0,25:1; V2 – substrat compus din sol de gazon, turbă comercială, perlit, nisip şi mraniță în raport 1:1:0,5:0,5:0,25 și V3 – substrat alcătuit din turbă comercială, sol de gazon şi nisip în raport de 1:1:0,25. Turba comercială utilizată trebuie să fie cu pH-ul neutru. Observațiile fenotipice și analiza rezultatelor înregistrate, au arătat că cel mai efectiv substrat s-a dovedit a fi V2. *II etapa* – plantule de goji, care au atins 5 – 7 cm în lungime și au format 5 – 7 frunze, s-au transferat pe un substrat compus din sol de gazon, turbă, nisip, în proporţii de 1:0,25:0,25, în vase vegetative de 500 ml, sub un carcas de pânză, amplasat în așa mod ca soarele să pătrundă doar dintr-o direcție.

După procesul de aclimatizare, plantele au fost plasate pe terenul experimental (colecţia de arbuşti fructiferi) urmărind procesul de adaptare a lor în condiţiile pedoclimatice (descrise în Capitolul 4).

4. STUDIUL MORFO-ANATOMIC ŞI BIOCHIMIC COMPARATIV AL SPECIEI *LYCIUM BARBARUM* L.

Cercetarea particularităților biologice de creștere și studiul fitochimic prin identificarea și dozarea substanţelor biologic active a speciei *L. barbarum* L. sunt puţine şi incomplete, de aceea este oportună efectuarea unor cercetări mult mai detaliate. Prin aceste cercetări se urmărește adaptărea individuală a soiurilor de goji la condiţiile pedoclimaterice a R. Moldova, cum ar fi: schimbări morfologice, anatomice, fiziologice şi biochimice. Creșterea valorii economice a speciei se datorează proprietăţilor nutriţionale şi terapeutice multiple recunoscute pe plan mondial [24].

4. 1. Aspecte fenologice ale arbuştilor din specia *Lycium barbarum* L.

Parcurgerea fazelor de vegetație ale plantelor din specia *L. barbarum* L. s-a înregistrat pe baza observațiilor efectuate la ieșirea plantelor din stadiul de dormanță în primul an (martie 2017) și respectiv anul doi al culturii (aprilie 2018).

Cele trei soiuri au avut o dinamică relativ similară a parcurgerii fazelor vegetative, menționăm că soiul ’Licurici’ a avut un debut mai tardiv în 2017, dar în 2018 a ajuns să îl depășească. În perioada de înflorire, toate trei soiuri au continuat să formeze flori până la sfârșitul lui noiembrie, fapt ce denotă, că în zona R. Moldova, perioada de înflorire și fructificare este mai îndelungată decât cea menționată în literatura de specialitate pentru alte zone geografice [23].

4.2. Biometria organelor vegetative ale arbustului de *Lycium barbarum* L.

Caracteristicile biologice ale arbuștilor din specia *L. barbarum* L., în perioada 2016 – 2018 au fost analizate în baza a patru parametri precum: înălțimea plantei, numărul de lăstari, lungimea lăstarilor și numărul de frunze pe plantele arbuştilor de goji cultivaţi.

Dinamica creșterii în înălțime a plantelor. Particularitatea studiată a manifestat diferenţe semnificative între taxoni, în funcție de perioada analizată. La plantare (18.11.2016), înălțimea medie a plantelor la ghivece a fluctuat între 40 – 50 cm.

După 12 luni de la plantare (noiembrie 2017), înălțimea plantelor cu vârsta de 1 an, variază în medie, de la 56,6 soiul ’Ning Xia N1’, 75,67 cm ’Erma’ până la 93,87 cm pentru ’Licurici’. Deși la înălţime plantele nu diferă esențial, aceste diferenţe sunt statistic semnificative ($p<0,05$).

După 24 luni de la plantare (noiembrie 2018), înălțimea medie a plantelor după 2 ani de la plantare, analiza comparativă a arbuştilor se evidenţiază la soiului ’Licurici’ cu 195,53 cm și ’Erma’ 184,33 ce au scos în evidență diferenţe nesemnificative statistic, ale creșterii plantelor, cu excepţia soiului ’Ning Xia N1’ 173,47 cm.

Menționam faptul, că plantele lăsate să crească fără nici o intervenție asupra arhitecturii lor, în vederea studierii tendinței naturale de dezvoltare (tufă), au avut mai multe tulpini: între 1 și 5. Ritmul de creștere al plantelor din lotul experimental relevă faptul, că pe perioada 2016 – 2018 arbuștii de *Lycium* au avut o creștere în mediu de 0,36 – 0,55 m/an.

Dinamica dezvoltării de ramuri pe plantă. Creșterea ramurilor de *L. barbarum* L. în primul an de dezvoltare a fost studiată pe fiecare plantă în dinamică. Cele mai reprezentative etape în acest studiu au fost: luna mai, perioada iunie-august și luna noiembrie.

După 12 luni de la plantare (noiembrie 2017), numărul de ramuri al plantelor după 1 an de la plantare a relevat o diferenţă semnificativă între soiuri, astfel, plantele de soiul ’Ning Xia N1’ au un număr de ramuri în mediu de 18,47, mai mic în comparaţie cu soiurile ’Erma’ şi ’Licurici’ (22,73 respectiv 34,73).

După 18 luni de la plantare (mai 2018), numărul ramurilor se evidențiază la ’Licurici’ (34,73), cu diferenţe semnificative față de soiurile ’Erma’ şi ’Ning Xia N1’ (22,73 – 22,60).

Lungimea ramurilor. Lungimea și numărul frunzelor sunt indicatori importanți în formarea masei vegetale și în dinamica de creștere a plantei.

După 12 luni de la plantare (noiembrie 2017), în ceea ce privește anul 2017, valorile indicatorului *lungimea medie a lăstarilor,* s-au remarcat diferenţe semnificative între soiuri. Diferențele s-au dovedit a fi cu o valoare minimă de 17,67 cm ’Ning Xia N1’, 21,0 ’Erma’ și maximă de 23,13 cm la ’Licurici’.

După 18 luni de la plantare (mai 2018), lungimea lăstarilor la 1 an și jumătate de la plantare, prezintă o valoare minimă de 4,99 cm cu diferenţe statistic semnificative ($p<0,05$) la plantele soiului ’Ning Xia N1’, în comparație cu plantele soiurilor ’Licurici’ şi’Erma’ cu valori maxime de 7,67 respectiv 6,83 cm cu diferenţe statistic nesemnificative.

Astfel, se observă că în 2018, lungimea medie a lăstarilor față de aceeași perioadă a anului anterior (mai 2017) a avut valori mai mici. Acest lucru a fost valabil la toate soiurile studiate. Valorile indicatorului numărul de lăstari aferente acestor două perioade (mai 2017 și 2018), putem presupune că valorile scăzute ale indicatorului lungimea medie a lăstarilor din anul 2018, este faptul că în acest an față de precedentul numărul de lăstari noi apăruți a fost mult mai mare.

Formarea frunzelor. Forma frunzelor a variat considerabil între soiurile studiate. Numărul total de frunze pe plantă, la soiurilor studiate, în primul an de plantare a fost determinat prin măsurătorile efectuate în perioada mai – iunie 2017. Valoarea maximă a fost de 195,47 frunze la 'Licurici' cu diferențe statistic semnificative față de soiurile investigate, cu valoari minime de 161,53 şi respectiv 171,01 frunze la soiurile 'Ning Xia N1' şi 'Erma'. Numărul de frunze pe plantă a crescut semnificativ în cel de-al doilea an de la plantare față de primul. Inițial, soiul 'Licurici' a avut un număr mediu de frunze mult mai mare pe plantele sale, decât au avut soiurile 'Ning Xia N 1' şi 'Erma'. Însă, în anul doi, valorile acestui indicator a înregistrat valori mai mari semnificative statistic fiind la soiurile 'Licurici' şi 'Erma' comparativ cu soiul 'Ning Xia N1'.

Observațiile fenologice relevă faptul că, majoritatea plantelor a celor trei taxoni de *L. barbarum* L. nu au ajuns la maturitate până în anul 2018. Plantele soiurilor 'Erma' şi 'Ning Xia N1' au avut un ritm de dezvoltare mai modest decât cele ale soiului 'Licurici' în lunile mai și iulie – august 2017, însă ele și-au accelerat rata de creștere spre sfârșitul anului respectiv. Acest ritm luxuriant de dezvoltare a fost păstrat de 'Erma' şi 'Ning Xia N1' și în anul 2018.

4.3. Particularităţile anatomice adaptive ale frunzelor (seră şi teren) la specia şi soiurile de *L. barbarum* L.

În cadrul studiului de față au fost realizate cercetările anatomice comparative ale speciei *L. barbarum* L. atât din flora spontană, cât şi soiurilor cultivate de goji, pentru a stabili caractere adaptive structurale ale rezistenţei lor la secetă, în condițiile pedoclimatice din R. Moldova. Descrierea anatomică a frunzelor taxonilor de goji studiați a scos în evidență indici structurali cu caracter de identificare a taxonilor de goji.

Astfel, pentru frunzele de *L. barbarum* L. epiderma adaxială este alcătuită din celule epidermale propriu zise de forme poligonale, acoperite cu o cuticulă ceva mai groasă, comparativ cu epiderma abaxială. Celulele epidermale, situate deasupra mezofiului, au cuticula mai groasă, decât celulele epidermale de pe nervurile frunzei. Caracteristic este căptușeala fasciculului conductor (constând din celule idioblastice cu conținut maro sau negru).

Soiul 'Ning Xia N1' – conţine stomate de tip anizocitic pe ambele epiderme, înconjurate de 3 celule anexe. Celulele epidermale sunt izodiametrice. Sunt prezente cristalele cu oxalat de calciu sub formă de druze.

La soiul ’Erma’ prezența stomatelor de tip anomocitic s-a constat pe ambele epiderme, dar numeric mai multe pe cea inferioară. Mezofilul frunzei este diferențiat dorso-ventral, țesutul palisadic format din 2 rânduri de celule ușor alungite, bine aranjate sub epiderma superioară, epiderma inferioară prezintă celule rotunde sau ovale.

Soiul ’Licurici’ – celulele epidermale de formă ovală cu cloroplaste, aşezate într-un singur strat. Druzele de oxalat de calciu sunt dispersate și aranjate în teacă, celulele țesutului palisadic aranjate în două rînduri cu celule alungite cu puțin spațiu intercelular. Din punct de vedere histo-anatomic, toţi taxonii studiaţi s-au remarcat printr-o mare uniformitate și absența perilor tectori (trihomii). Epidermele sunt asemănătoare unistratificate, puternic cutinizate, cu celule alungite, având pereţii externi îngroşaţi.

Anatomia comparată a frunzelor unor taxoni studiați (condiții de seră și teren)

Evidenţierea particularităţilor structurale ale frunzelor la soiurile şi specia *L. barbarum* L., care se deosebesc după origine, prezintă interes pentru cunoaşterea deplină a proprietăţilor biologice ale taxonilor, fiind actuale pentru horticultură. Cu toate că soiurile analizate indică valori diferite la grosimea limbului, în urma analizei coraportul dintre mezofil și grosimea limbului între soiuri arată că, cea mai mare valoare de 0,85 şi 0,89 s-a înregistrat la taxonii ’Erma’, ’New Big’, ’Amber Sweet’ și ’Licurici’ (Tabelul 4.1).

Tabelul 4.1. Caracteristicile anatomice ale frunzelor speciei de *L. barbarum* spontan şi cultivat (condiții de seră și teren)

Specia, Soiul	Caractere anatomice						
	Grosimea laminei (µm)	Grosimea epidermelor (µm)		Grosimea mezofilului (µm)	Indicele coraportului grosimii		
		Adaxială	Abaxială		Mezofil /lamina	Epiderma adaxială/ abaxială	Epiderma /lamina
***Lycium barbarum* L.** (FST.)	135,00±0,50	20,30±0,62	7,23±0,33	107.0±0,62	0,79	2,8	4.90
Ning Xia N1 (S)	117,27±1,21	14,53±0,35	9,80±0,63	85,0±0,76	0,72	1.48	4.80
Ning Xia N1 (T)	126,17±4,07	15,90±0,66	12,25±0,41	123,40±1,52	0,74	1,29	4.48
Erma (S)	126,00±0,49	18,30±0,64	11,00±0,26	97,20±2,27	0,73	1,66	4,3
Erma (T)	143,20±0,85	19.60±0,62	14,70±0,54	155,50±1,29	0,89	1,33	4,17
Licurici (S)	187,40±0,74	27,30±0,99	18,95±0,85	162,30±0,30	0,86	1,44	4,05
Licurici (T)	195,00±0,82	35,60±1,17	27,7±0,84	167,0±2,02	0,85	1,28	3,08

Notă: n – abaterea; ***FST*** – flora spontană teren; ***S*** – seră (teren protejat); ***T*** – teren.

Specia spontană şi soiul ’Ning Xia N1’ înregistrează valori între 0,79 – 0,74. La soiurile cultivate în teren protejat minime pentru soiul ’Ning Xia N1’ – 0,72, iar maximal pentru ’New Big’, ’Amber Sweet’ şi ’Licurici’ 0,87.

Rezultatele cercetării structurii anatomice cantitative şi calitative (descrise detaliat) şi studiul anatomic comparativ al frunzelor taxonilor studiate printr-un complex de indicatori anatomici demonstrează că, soiurile studiate dispun de un caracter potențial structural adaptiv la acţiunea condiţiilor mediului. Acest fapt se observă prin adaptarea structurilor externe cum ar fi: cuticula groasă de tip extern-intern, dimensiunile şi gradul de împachetare al celulelor epidermei şi celor interne: gradul de dezvoltate a mezofilului, prezenţa şi modul de distribuire a druzelor oxalatului de calciu, gradul de dezvoltare al ţesutului mecanic.

4.4. Studiul biochimic al frunzelor şi fructelor speciei *L. barbarum* L. din flora spontană şi cultivată

Compușii bioactivi posedă rol de antioxidanți și cu abilitatea de a capta radicalii în procesele biologice, datorită căror manifestă efecte fitoterapeutice. Taninurile şi flavonoidele au demonstrat proprietăți antibacteriene, antivirale, antioxidante și antiinflamatoare. De asemenea, principala caracteristică a unui antioxidant, care poate fi de natură enzimatică, polifenolică, vitamine, pigmenţi, are capacitatea de a neutraliza radicalii liberi şi speciile reactive de oxigen [15].

4.4.1. Analiza calitativă a flavonoidelor și taninurilor

Descrierea *screening*-ului fitochimic reacţiilor chimice specifice în probele analizate, denotă că gradul de expresie este mai pronunțat pentru extractele din frunze decât în fructe, ce demonstrează prezenţa unui spectru flavonoidic diferit. Astfel, diferiți constituienți flavonoidici sunt prezenți în organele plantei de goji spontan şi cultivat (plante obţinute prin culturi *in vitro*).

Analiza rezultatelor aplicării reacţiilor analitice de colorare şi sedimentare demostrează prezenţa în mare parte a taninurilor condensate (colorarea în verde-negricios cu soluţia de alauni de fier și amoniu, iar galben-verzui – cu soluţie de acid acetic şi acetat de plumb). Efectele reacţiilor analitice au fost mult mai pronunţate în *frunze*, decât în *fructe*, în special în extractele produselor recoltate din flora spontană.

4.4.2. Determinarea cantitativă a compuşilor biologic activi

*Conţinutul total de flavonoide***.** Analiza spectrofotometrică a extractelor vegetale a rezultat în date cantitative ale conținutului total al flavonoidelor determinat în grame la 100 g produse vegetale exprimat prin rutozidă (PV) (Figura 4.1). Rezultatele obţinute arată, că conţinutul flavonoidic prevalează în frunzele de la plantele spontane (50,33 mg/g PV). Frunzele plantelor

cultivate au valori înalte de 56,33 mg/g PV pentru soiul ’Licurici’ urmat de soiurile ’Ning Xia N1’ şi ’Erma’ cu un conţinut de 56,00 mg/g PV.

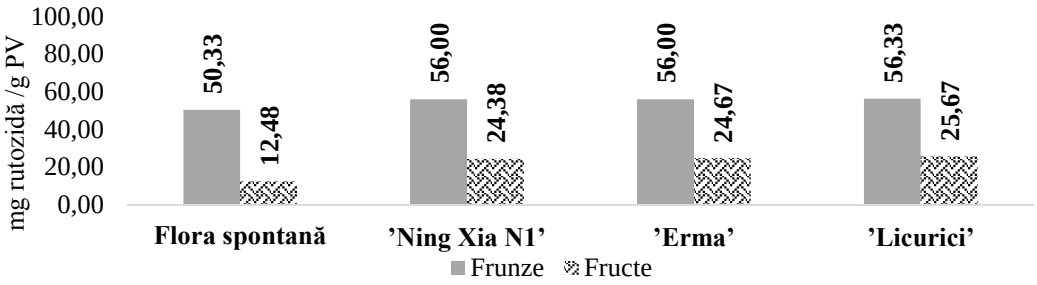

Fig 4.1. Totalul flavonoidic în frunzele şi fructele goji spontan şi cultivat

La fructele plantelor spontane au relevat valori minime (12,48 mg/g PV), şi mult mai mari la cele cultivate. Asfel, se evidenţiază soiul ’Licurici’ (25,67 mg/g PV) şi ’Erma’ ce constituie 24,67 mg/g PV, iar cea mai mică valoare fiind observată la soiul ’Ning Xia N1’ (24,38 mg/g).

Conţinutul total de taninuri. Dozarea conţinutului taninic s-a efectuat prin aplicarea metodelor: titrimetrice (*permanganatometrică, permanganatometrică asociată cu sedimentarea taninurilor cu gelatină*) şi spectrofotometrică (lungimea de undă 275 nm, recalcul la soluţia standard de tanin). Rezultatele dozării taninurilor pentru produsele vegetale (frunze şi fructe) din flora spontană şi cultivată sunt sintetizate în Figura 4.2.

Metoda permanganatometrică asociată + sedimentarea cu gelatină – a relevat valori maxime pentru frunzele din flora spontană cu 5,84%, urmat de soiurile ’Erma’, ’Licurici’ 3,96% şi ’Ning Xia N1’ cu 3,90%. În ceea ce priveşte conţinutul de taninuri în fructe valorile procentuale sunt cuprinse între 2,34% (flora spontană) şi 1,94% la soiurile cultivate.

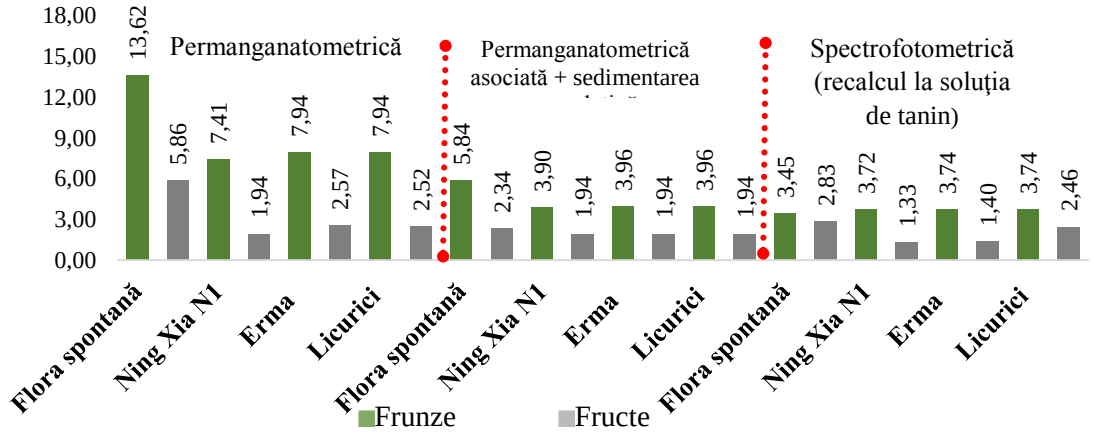

Fig. 4.2. Ponderea procentuală a taninurilor determinată titrimetric şi spectrofotometric în produsele vegetale de *L. barbarum* spontan şi cultivat

Rezultatele investigaţiilor demonstrează, că prin toate metodele aplicate, frunzele din flora spontană şi soiurile cultivate se evidenţiază prin conţinutul maxim de taninuri, determinat permangatometric. Metodă optimă de dozare este *permanganatometrică asociată cu sedimentarea*

taninurilor prin aplicarea reacţiei cu gelatină deoarece este de o exactitate mai înaltă. Conținutul cantitativ al flavonozidelor și taninurilor în produsele vegetale analizate variază, toate formele studiate prezintă interes pentru industria alimentară și industria farmaceutică.

4.4.3. Analiza indicatorilor biochimici în fructele speciei *Lycium barbarum* L. spontane și cultivate

Evaluarea taxonilor sub aspectul calităţii fructelor a constituit o componentă importantă în completarea descrierii acestora; calitatea este o caracteristică importantă atât pentru fructele consumate în stare proaspătă cât şi pentru cele destinate prelucrării. Conținutul acidului ascorbic în fructe variază în funcţie de proveniența acestora, biosinteza şi acumularea minimă revine fructelor recoltate din plantele cultivate: ’Ning Xia N1’ (0,107%), ’Erma’ (0,111%), ’Licurici’ (0,114%) şi maximă celor din flora spontană (0,118 %). Rezultatele denotă, că conţinutul de acid ascorbic în fructele de goji variază de la 0,107 la 0,118 % acid ascorbic (Tabelul 4.2).

Tabelul 4.2. Analiza indicatorilor biochimici a fructelor speciei *Lycium barbarum* L. spontane și cultivate

Indicatori	Flora spontană	Ning Xia N1	Erma	Licurici
Masa medie a fructului, g	0,689	0,801	0,848	0,852
Zaharul total, %	4,548	7,158	6,454	8,514
Aciditatea totală titrabilă, %	0,405	0,381	0,301	0,335
Vitamina C %	0,118	0,107	0,107	0,111

În ceea ce priveşte conţinutul de zahăr, acesta se încadrează în limitele normale (conţinutului de zahăr total din fructele de goji 3,45% – 8,90%) ale speciei *L. barbarum* L. [11]. Cea mai mare valoare a conținutului total de zahăr a fost înregistrată la soiul ’Licurici’ de 8,514%, urmat de ’Ning Xia N1’ 7,158% respectiv soiul ’Erma’ şi flora spontană 6,545% – 4,548%. Valorile acidităţii titrabile se încadrează în limitele absolute, conţinut acidului citric goji este cuprins între 0,58%, 0,89% [21]. O valoare maximă a conţinutului de acid s-a obţinut în cazul fructelor din flora spontană (0,405%) şi cu valori mai mici la soiurile: ’Ning Xia N1’, ’Licurici’ şi ’Erma’ de 0,381%, 0,335% şi 0,301%.

În contextul celor menționate, cantitatea de zahăr determinată în fructele goji cultivate, este mică, astfel pot servi în calitate de produs dietetic, binevenit în raţia alimentară zilnică pentru fortificarea organismului şi promovarea modului sănătos de viaţă. Unele studii au demonstrat, că cel mai mare conținut de zaharuri a fost observat în fructele colectate la sfârșitul vegetației (stadiu de maturare complet), cu o luminozitate însorită şi solul bine drenat. Fructele de goji sunt materie primă preţioasă pentru producerea produselor alimentare, medicinale, cosmetice şi alte produse.

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI PRACTICE

Concluzii generale

Pentru prima dată în R. Moldova s-a realizat multiplicarea *in vitro* a speciei *L. barbarum* L. şi evaluarea morfologică, biochimică comparativă a compuşilor fitochimici a speciei spontane şi soiurilor cultivate în condiţiile pedoclimatice ale R. Moldova.

1. A fost elaborată tehnologia și descris protocolul de multiplicare *in vitro* a soiurilor de goji: ’Amber Sweet’, ’New Big’, ’Erma’, ’Licurici’ și ’Ning Xia N1’ pentru producerea materialului săditor de calitate robust, necontaminat, uniform cu un potențial morfogenetic înalt de regenerare, inițiat din meristeme apicale şi meristeme apicale cu primordii foliare, inoculate pe mediu MS100% cu adaos de BAP – 0,2mg/l [26, 30].

2. Cercetările efectuate în vederea microclonări soiurilor de goji au relevat rata de proliferare sporită, în medie 22,06 de lăstari per explant pentru soiul ’Amber Sweet’, urmat de ’Licurici’ cu 20,17, ’New Big’ 16,11, ’Erma’ 14,72 și ’Ning Xia N1’ – 14,11 de lăstari pe mediul nutritiv MS 100%, suplinit cu citochina BAP (0,5 mg/l). Balanța hormonală optimă în procesul de înmulțire *in vitro*, s-a dovedit a fi: BAP (0,2 mg/l) + ANA (0,2 mg/l) + GA_3 (0,1 mg/l), care a determinat rata de proliferare rezonabilă şi lăstari relativ bine dezvoltaţi la soiurile studiate: ’Ning Xia N1’ (4,56), ’Erma’ (4,94), ’New Big’ (6,94), urmat de ’Amber Sweet’ (5,06) şi ’Licurici’ (5,22) [6].

3. Rizogeneza microlăstarilor a fost stimulată prin suplinirea mediului nutritiv de bază MS 100% cu auxinele AIB, AIA, ANA de 0,2 mg/l, cât și pe mediul nutritiv MS 50%. Ponderea cea mai mare de înrădăcinare circa 90% la toate soiurile de goji se obține pe mediul suplinit cu o concentraţie de 0,2 mg/l ANA. Mediul MS 50% adiţionat cu aceeaşi concentraţie de auxina ANA s-a dovedit a fi rentabil, optim și eficient în scopul conservării materialui de goji pentru o perioadă de 60 zile. Soiurile de goji au fost aclimatizate cu o rată de viabilitate de peste 95%, iar perioadă mai potrivită este cea estivală [17].

4. Procesul de calusogeneză se induce în prezența mediului MS 100% adiţionat cu regulatorii de creştere 2,4D de 1,0 mg/l şi BAP 0,1 mg/l iar creșterea organogenezei plantulelor provenite din masă calusară pe mediul MS 100% suplinit cu ANA (0,2 mg/l). Dinamica apariţiei calusului la soiurile de goji pentru ambele tipuri de explante (fragment de frunze și pețiol) este determinată de mediul de cultură, tipul de hormoni şi explant [32].

5. Studiul microscopic comparativ anatomic al frunzelor la taxonii studiați (flora spontană și cea cultivată), a demonstrat o mare omogenitate, care pune în evidență caractere structural-anatomice adaptive la condiţiile nefavorabile (secetă, temperaturi scăzute şi insolație) și anume: grosimea medie mai mare a laminei frunzei, prezența stomatelor cu o frecvenţă accentuată pe

epiderma inferioară şi localizarea druzelor de oxalat de calciu dispersate în mezofil zona fasciculelor conducătoare [33].

6. Condiţiile pedoclimatice ale R. Moldova sunt favorabile pentru creşterea și fructificarea soiurilor de goji, fapt ce a determinat o creștere abundentă în decursul anilor de studiu 2017 – 2019. Capacitatea de ramificare, care determină productivitatea biologică a plantelor de goji se bazează pe lungimea creşterii anuale a lăstarilor de rod influențată, atât de particularitățile soiului, condiţiile climatice, cât și de calitatea materialului săditor, rezistenţa la boli şi vârsta plantelor.

7. Rezultatele investigaţiilor biochimice calitative şi cantitative ale unor clase de compuși chimici denotă, că frunzele și fructele speciei *L. barbarum* L. cultivate pot servi drept surse importante de flavonoide (25,67 mg /g la cele cultivate şi 56,33 mg/g la plantele spontane), taninuri (2,34% plante cultivate şi 5,84% – spontane) și acid ascorbic (0,111% fructe cultivate şi 0,118 % – spontane). Acumularea conținutului de zahăr în fructele plantelor cultivate variază 6,54 – 8,51%, iar aciditatea lor este de 0,30 – 0,38%. Astfel, fructele au un conținut înalt de substanțe nutritive valoroase și un conținut redus de zahăr, ce oferă o calitate înaltă cu aport mic de calorii și un echilibru optimal de nutrienți [5].

Recomandări practice

1. Datele obținute și prezentate în această lucrare sunt recomandate pentru obținerea materialului săditor valoros necontaminat și omogen de soiuri goji pentru economia națională prin tehnologia multiplicării *in vitro* a plantelor speciei de *L. barbarum* L.

2. Pentru obținerea materialului de calitate se recomanda prelevarea explantelor de tip meristem apical şi meristem apical cu primordii foliare.

3. Se recomandă soiurile ’Licurici’, ’Erma’, ’Ning Xia N1’, ’New Big’, ’Amber Sweet’ pentru fondarea de plantații industriale ca sursă alimentară și în calitate de arbust decorativ pentru amenajarea spațiilor verzi, în condițiile pedoclimatice ale R. Moldova.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. AMAGASE H., FARNSWORTH N. A review of botanical characteristics, phytochemistry, clinicalrelevance in effi - cacy and safety of *Lycium barbarum* fruit (goji). Food Res. Int., 2011, 44, pp. 117-170.
2. BALAN V., SAVA P., CALALB T., CIORCHINĂ N., ș.a. Cultura arbuștilor fructiferi și căpșunului, Chișinău: „Bons Offices", 2017, 434 p. ISBN 978-9975-87-263-8.
3. CACHIȚA-COSMA D. Tratat de biotehnologii vegetale. Bucureşti, 2004. pp. 39-45.
4. CALALB T. Aronia Melanocarpa (Michx.) Elliot: (structura, biotehnologia, biochimia frutctelor), Chișinău: Digital Hardware SRL, 2010, 148 p.
5. CALALB T., **GORCEAG M.,** CHIRU T., CIORCHINĂ N., Studiul comparativ al conținutului polifenolic în frunzele și fructele sp. *Lycium barbarum* L. spontan și cultivat. În: Buletinul AȘM, științe medicale 2 (54), 2017, pp. 211-216.
6. CIORCHINĂ N., CUTCOVSCHII-MUŞTUC A., LOZINSCHII M., MÎRZA A., **GORCEAG M.**, TROFIM MARIANA. Înmulţirea *in vitro* a unor noi specii de arbuşti fructiferi de interes economic pentru R. Moldova. Conferinţa naţională cu participare internaţională „Ştiinţa în Nordul Republicii Moldova: realizări, probleme şi perspective", ed. 2, Bălţi 29-30 septembrie 2016, pp. 56-58. ISBN 978-9975-89-029.
7. CLAPA D., FIRA AL. Înmulțirea plantelor prin culturi *in vitro*. Publisher: Editura Risoprint. Cluj Napoca 2018. pp. 2-20. ISBN 978-972-53-2239-7.
8. CLAPA DOINA, BORSAI O., HÂRT M., BONTA V., SZABO K., COMAN V. BOBIS O. Micropropagation, Genetic Fidelity and Phenolic Compound Production of *Rheum rhabarbarum* L. Plants 2020. pp. 2-15.
9. CLAPA, DOINA, FIRA, A., JOSHEE, N., An Efficient *Ex Vitro* Rooting and Acclimatization Method for Horticultural Plants Using Float Hydroculture. Hortscience, 48(9): 2013. 160 p.
10. CODREANU V. Anatomia comparată a viței de vie. Chișinău: Combin. Poligraf, 2006, 252 p. ISBN 9975-62-120-1.
11. DONNO, D., G. L. BECCARO, M. G. MELLANO, A. K. CERUTTI AND G. BOUNOUS. Goji berry fruit (*Lycium* spp.): Antioxidant Goji berry compound fingerprint and bioactivity evaluation. J. Funct. Foods. 18: 2015. pp. 170-185.
12. FIRA A, N. JOSHEE AN. Efficient *ex Vitro* Rooting and Acclimatization Method for Horticultural Plants Using Float Hydroculture, Hortscience, 48: 2013. pp. 1159-1167.
13. FIRA A., JOSHEE N., CRISTEA V., SIMUM, HÂRȚA M., PAMFIL D., CLAPA D. Optimization of micropropagation protocol for goji berry (*Lycium barbarum* L.). Bull UASVM Horticulture 3. 2016. pp. 141–150.
14. FLOREA, V. Cultura plantelor medicinale. Chișinău: Ad.-Vis, 2006. 312 p. ISBN 978-9975-9814-1-5.
15. FORINO M., TARTAGLIONE L., DELL'AVERSANO C., CIMINIELLO P., NMR-based identification of the phenolic profile of fruits of *Lycium barbarum* L. (goji berries). Isolation and structural determination of a novel Nferuloyl tyramine dimer as the most abundant antioxidant polyphenol of goji berries. Food Chemistry, 194: 2016. pp. 1254-1259.
16. FORMULARUL Statistic Biroul Național de Statistică al R. Moldova 2017. 200 p.
17. **GORCEAG M.**, Aspects of the *in vitro* organogenesis of the species *Lycium barbarum* L. (goji), Journal of Botany Vol. IX, Nr.1 (14), 2017 pp. 29 – 34.
18. HITI BANDARALAGE J. C., HAYWARD A., BRIEN C. O, MITTER N. Gibberellin and cytokinin in synergy for a rapid nodal multiplication system of avocado VIII Congreso Mundial de la Palta. 2015. pp. 95-103.

19. HU, Z., Y.R. WU, W. LI, AND H.H. GAO. Factors affecting Agrobacterium tumefaciens – mediated genetic transformation of *Lycium barbarum* L. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant 42: 2006. pp. 461–466.
20. HUNKOVÁ J., LIBIAKOVÁ G. and GAJDOŠOVÁ A. Shoot proliferation ability of selected cultivars of Rubus spp. as influenced by genotype and cytokinin concentration. Journal of Central European Agricultur. Volume: 17, 17(2) Issue: 2 p. 2016, pp. 379-390. ISSN 1332-9049.
21. JUANFANG LU, HAOXIA LI, JUNPING QUAN, WEI AN, JIANHUA ZHAO & WANPENG XI Identification of characteristic aroma volatiles of Ningxia goji berries (*Lycium barbarum* L.) and their developmental changes, International Journal of Food Properties, 20:sup1, 2017. pp. 214-S227- 129.
22. LITWIŃCZUK, W. Field performance of 'Senga Sengana' strawberry plants (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) obtained by runners and *in vitro* through axillary and adventitious shoots. Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Horticulture 2004. pp. 74-79.
23. MENCINICOPSCHI I.C., BALAN V., MANOLE C., *Lycium barbarum* L. - A new spices with adaptability potential in Bucharest area. Scientific Papers. Series A. Agronomy, 2: 2012. pp. 95-101.
24. MOCAN A., VLASE L., RAITA O., HANGANU D., PĂLTINEAN R., DEZSI Ş., GHELDIU A.M., OPREAN R., CRIŞAN G., Comparative studies on antioxidant activity and polyphenolic content of *Lycium barbarum* L. and *Lycium chinense* Mill. Leaves. Pak. J. Pharm. Sci., 28: 2015. pp. 1511-1515.
25. POTTERAT O. 2010, Goji (*Lycium barbarum* and L. *chinense*): Phytochemistry, Pharmacology and Safety in the Perspective of Traditional Uses and Recent Popularity, Planta Med Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart New York . 2010; pp. 7–19. ISSN 0032‑0943.
26. ROMANCIUC G. Cercetarea cercetarea proceselor de dezvoltare şi multiplicare microclonală *in vitro* la *Actinidia chinensis* Planch. Teză de dr.,Chişinău 2009, 142 p.
27. SAVA P., Sporirea productivităţii agrişului şi zmeurului în cultura intensivă prin selectarea soiurilor şi perfecţionarea structurii plantaţiilor, Teză de dr. hab., Chişinău 2019. p. 196-206.
28. STĂNICĂ, F., Microînmulţirea plantelor horticole, Format electronic, Editura Invel Multimedia, Bucureşti. 2004. pp. 20-48. ISBN 973-7753-07-0.
29. STATISTICA anuară al Republicii Moldova. Biroul Național de Statistică al Republicii Moldova. F.E.P. "Tipogr. Centrală", Ch.: Statistica, 2016, 189 p.
30. **TABĂRA M**., CIORCHINĂ N., TROFIM M., CUTCOVSCHI MUŞTUC A., Influenţa regulatorilor de creştere asupra procesului de multiplicare la specia *Lycium barbarum* L. Conferinţa ştiinţifico-practică „Instruire prin cercetare pentru o societate prosperă" consacrată jubileului „90 de ani ai Facultăţii Biologie şi chimie", Chişinău 2020 pp. 221-228. ISBN 978-9975-76-307-3.
31. **TABĂRA M.**; CIORCHINĂ N.; TROFIM M.; CUTCOVSCHII-MUŞTUC A. Micropropagarea soiul de goji „Erma", Conferința Științifică Națională cu Participare Internațională „Știința și inovarea în nordul Republicii Moldova: probleme, realizări, perspective" (ediția a treia) Bălți, 21-22 iunie 2019 pp. 336-340. ISBN 978-9975-3316-1-6.
32. **TABĂRA M.**, CIORCHINĂ N., CUTCOVSCHI-MUŞTUC A., TROFIM M., MÎRZA A. Procesele calusogene la *Lycium barbarum* L UASM au demarat lucrările Simpozionului Științific Internațional "Agricultura modernă – realizări și perspective", dedicat aniversării 85 ani de la fondarea UASM, 04-06 octombrie 2018, pp. 363-368.
33. **TABĂRA M.**, Structura anatomică a laminei frunzei speciei spontane *Lycium barbarum* L. şi a soiurilor, Akademos – Revistă de știință, inovare, cultură și artă, Nr. 5 (56), 2020, pp. 15 – 20.
34. TANZIMAN A., REZAUL K., M. REZAUL K., RAFIUL I., MONZUR H. Callus induction and shoot regeneration in strawberry (*Fragaria* x *ananassa* Duch.) International Journal of Biosciences (IJB). Vol. 2, No. 10(1), 2012. pp. 93-100, ISSN: 2220-6655.
35. TRIGIANO RN, GRAY DJ, Plant tissue culture, development, and biotechnology. CRC Press, Boca Raton, FL, 2016. 262 p.

LISTA SELECTIVĂ A LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE LA TEMA TEZEI

Articole în reviste ştiinţifice naţionale

1. **TABĂRA M.**, Structura anatomică a laminei frunzei speciei spontane *Lycium barbarum* L. şi a soiurilor, Akademos – Revistă de ştiinţă, inovare, cultură şi artă, Nr. 1 (56), 2020, p. 15 – 20. ISSN 1857-0461.
2. CALALB T., **GORCEAG M.**, CHIRU T., CIORCHINĂ N., Studiul comparativ al conţinutului polifenolic în frunzele şi fructele sp. *Lycium barbarum* L. spontan şi cultivat, Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei, Ştiinţe Medicale Revistă ştiinţifico-practică, 2(54)/2017, p.212-216. ISSN 1857-0011.
3. **GORCEAG M.**, Aspects of the *in vitro* organogenesis of the species *Lycium barbarum* L. (goji), Journal of Botany Vol. IX, Nr.1 (14), 2017 p. 29 – 34. ISSN 1857-095X.

Articole în culegeri ştiinţifice de lucrări ale conferinţelor internaţionale (în republică)

4. **TABĂRA M**., CIORCHINĂ N., TROFIM M., CUTCOVSCHI MUŞTUC A., Influenţa regulatorilor de creştere asupra procesului de multiplicare la specia *Lycium barbarum* L. Conferinţa ştiinţifico-practică „Instruire prin cercetare pentru o societate prosperă” consacrată jubileului „90 de ani ai Facultăţii Biologie şi chimie”, Chişinău 2020 p. 221-228. ISBN 978-9975-76-307-3.
5. **TABĂRA M.**; CIORCHINĂ N.; TROFIM M.; CUTCOVSCHII-MUŞTUC A. Micropropagarea soiul de goji „Erma”, Conferința Științifică Națională cu Participare Internațională „Știința și inovarea în nordul Republicii Moldova: probleme, realizări, perspective” (ediția a treia) Bălți, 21-22 iunie 2019 p. 336-340. ISBN 978-9975-3316-1-6.
6. **TABĂRA M**.; CIORCHINĂ N.; TROFIM M. Cerințele față de mediu și caracteristicile ecologice ale speciei *Lycium barbarum* L. The National Conference with International Participation"Dimitrie Cantemir" State University Chisinau, Republic of Moldova., october 21-22, 2019, p. 175-176. ISBN 978-9975-108-83-6.
7. **TABĂRA M.**, CIORCHINĂ N., TROFIM M. Inițierea procesului de calusogeneză și morfogeneză la *Lycium barbarum* L. (goji). Conferința Științifică a Doctoranzilor „Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători”, ediția a VII-a La 15 iunie 2018, p. 196-201. ISBN 978-9975-108-45-4.
8. CIORCHINĂ N., CUTCOVSCHII-MUŞTUC A., LOZINSCHII M., MÎRZA A., **GORCEAG M.**, TROFIM M. Înmulţirea *in vitro* a unor noi specii de arbuşti fructiferi de interes economic pentru R. Moldova. Conferinţa naţională cu participare internaţională „Ştiinţa în Nordul Republicii Moldova: realizări, probleme şi perspective”, ed. 2, Bălţi 29-30 septembrie 2016, p. 56-58. ISBN 978-9975-89-029.

Articole în culegeri de lucrări ale conferinţelor internaţionale (peste hotare)

9. ЧОРКИНЭ Н.Г., **ТАБАРА М.А.**,. КУТКОВСКИ-МУШТУК А.И, ТРОФИМ М.И., ЛОЗИНСКИ М.Н. *Lycium barbarum* L. (гожи) в культуре *in vitro*, сорт Эрма. Conference: Annual Meeting Society of Plant Physiologists of Russia Mechanisms of resistance of plants and microorganisms to unfavorable environmental Book of Proceedings (in two parts) of the All-Russian Scientific Conference with International Participation and Schools of Young Scientists (Irkutsk, July 10–15, 2018**.** p. 1423-1427. ISBN 978-5-94797-324-2.

Comunicări la conferiţe cu raport oral

- Simpozionul ştiinţific internaţional „Biotehnologii avansate – realizări şi perspective”. Ediția a V-a 21-22 octombrie 2019 Chișinău.
- Biotehnologii avansate – realizări și perspesctive, al IV-lea Simpozion național cu participare internațională, 3-4 octombrie 2016, Chișinău.

ADNOTARE

Tabăra Maria, ”Dezvoltarea şi multiplicarea microclonală a speciei *Lycium barbarum* L. (goji)”, teză de doctor în ştiinţe biologice, Chişinău, 2020.

Structura tezei. Teza include introducere, patru capitole, concluzii generale şi recomandări practice, bibliografia din 321 surse, volumul total de 156 pagini, 18 tabele, 39 figuri şi 10 anexe. Rezultatele obţinute sunt publicate în 21 lucrări ştiinţifice.

Cuvinte-cheie: *Lycium barbarum* L., cultura *in vitro,* microclonare/micropropagare, calusogeneză, rizogeneză, aclimatizare, soiuri de goji, fenologie, anatomie, biochimie.

Domeniu de studiu: 164.01 – Botanica

Scopul tezei: elaborarea tehnologiei de multiplicare *in vitro* a speciei *Lycium barbarum* L., evidenţierea particularităţilor biomorfologice şi estimarea biochimică comparativă ale speciei spontane şi soiurilor cultivate în condiţiile pedoclimatice ale R. Moldova.

Obiectivele de cercetare: *identificarea, mobilizarea soiurilor de goji şi evidenţierea explantelor adecvate pentru iniţierea culturilor *in vitro*;*selectarea mediilor nutritive, adecvate pentru fiecare etapă de microclonare;*analiza biologiei dezvoltării plantelor obţinute, în condiţiile *in vitro, ex vitro* şi în teren experimental;*studiul anatomic şi evaluarea biochimică comparativă a conţinutului de flavonoide, taninuri şi acid ascorbic la plantele de goji cultivat şi din flora spontană;*elaborarea tehnologii de micropropagare şi descrierea protocolului de obţinerea unui coeficient înalt de înmulţire la soiurile de goji şi extinderea genofondului de arbuşti fructiferi din cadrul GBNI (iniţierea colecţiei).

Noutatea şi originalitatea ştiinţifică: pentru prima dată în R. Moldova s-a realizat înmulţirea plantelor de goji prin tehnici şi metode de micropropagare eficiente pentru producerea de material săditor robust, necontaminat şi genetic uniform. S-au optimizat microtehnicile de cultivare *in vitro* ale organogenezei şi calusogenezei la soiurile goji de perspectivă. S-a efectuat studiul biologic complex la soiurile de goji, (morfologic, anatomic, biochimic) comparativ cu specia din flora spontană autohtonă în condiţiile pedoclimatice ale R. Moldova.

Problema ştiinţifică soluţionată: constă în elaborarea tehnologiei multiplicarii *in vitro* a speciei *Lycium barbarum* L. şi obţinerea materialului săditor de calitate necontaminat, uniform genetic şi omogen la soiurile de goji în condiţiile climaterice ale R. Moldova. Materialul săditor obţinut prin cultura *in vitro* va contribui în înfiinţarea plantaţiilor moderne în R. Moldova şi organizarea în GBNI a colecţiei de arbuşti fructiferi.

Semnificaţia teoretică: rezultatele cercetărilor biotehnologice completează informaţia ştiinţifică privind studiile de microclonare şi micropropagare a plantelor de goji, bazată pe principiul totipotenţei celulare în culturile *in vitro* pentru regenerarea vitroplantulelor. De asemenea, acest studiu vizează particularităţile biologice de creştere şi dezvoltare ale plantelor, în baza aspectelor fenologice, biometrice, anatomice şi biochimice, în condiţiile pedoclimatice pe teritoriul R. Moldova, date care ar contribui la instruirea corespunzătoare a agricultorilor cu privire la folosirea de soiuri rezistente la secetă şi de calitate înaltă.

Valoarea aplicativă: elaborat şi descris detaliat protocolul de obţinere a materialului săditor sănătos şi omogen la soiuri de goji pentru R. Moldova. Rezultatele cercetărilor sunt utilizate în Laboratorul de Embriologie şi Biotehnologie a GBNI. Materialul săditor obţinut a servit ca sursă pentru a iniţia crearea colecţiei din 5 soiuri de goji din GBNI:’Amber Sweet’,’Erma’, ’Ning Xia N1’, ’New Big’ şi ’Licurici’ (soi ameliorat de către cercetătorii ştiinţifici ai Laboratorul de Embriologie şi Biotehnologie a GBNI, în prezent se află la comisia de testare CSTSP). Plantele de goji multiplicate *in vitro* pot servi în calitate de material săditor pentru fondarea plantaţiilor moderne de goji pe arii extinse pe teritoriu R. Moldova.

Implementarea rezultatelor ştiinţifice: în baza cercetărilor ştiinţifice efectuate au fost implementate metodele de multiplicare *in vitro* a speciei *L. barbarum* L. aplicate în contracte economice realizate în Laboratorul de Embriologie şi Biotehnologie. Rezultatele studiilor obţinute fenologice şi biochimice vor îmbogăţi spectrul sectorului de pomuşoare existente în R. Moldova. Totodată, acestea reprezintă material ştiinţifico-didactic pentru cursurile: *Botanică aplicată, Botanică farmaceutică, Chimie biologică* şi în instituţiile de învăţământ cu profil biologic şi agricol, precum şi realizarea de contracte cu beneficiari particulari, gospodării ţărăneşti şi amatori interesaţi de soiurile goji.

ANNOTATION

Tabăra Maria, "Development and microclonal multiplication in *Lycium barbarum* L. (wolfberry)", PhD thesis in biological sciences, Chisinau, 2020.

Structure of the thesis. The thesis includes introduction, four chapters, general conclusions and practical recommendations, bibliography from 321 sources, total volume of 156 pages, 18 tables, 39 figures and 10 annexes. The obtained results are published in 21 scientific papers.

Keywords: *Lycium barbarum* L., *in vitro* culture, microclonation/micropropagation, callusogenesis, rhizogenesis, acclimatization, goji varieties, phenology, anatomy, biochemistry.

Field of investigation: 164.01 – Botany

The purpose of the research is to develop *in vitro* multiplication technology of *Lycium barbarum* L. and comparative morphological and biochemical evaluation of biochemical compounds of the spontaneous species and varieties grown under the pedoclimatic conditions of the Republic of Moldova.

Objectives of the thesis: *identification of goji varieties and highlighting the appropriate explants for initiating *in vitro* cultures *selection of nutrients suitable for each stage of microcloning *analysis of plant development biology obtained, *in vitro*, *ex vitro* and experimental conditions; *anatomical study and comparative biochemical evaluation of the content of flavonosides, tannins, and ascorbic acid in cultivated goji plants and spontaneous flora; *elaboration of micropropagation technologies and description of the protocol for obtaining a high multiplication coefficient for goji varieties and extension of the genus of fruit shrubs within GBNI (initiation of the collection).

Scientific novelty and originality. For the first time in the Republic of Moldova, goji plants have been propagated through efficient micropropagation techniques and methods for the production of robust, uncontaminated and uniform propagating material. This complex study is the first of its kind in our country, its importance being given by the need for biological characterization of shrubs in the experimental group, making observations and biometric measurements on: plant height, length and number of shoots, number of leaves on the rosette and on the plant, and the comparative highlighting of the morpho-anatomical and biochemical peculiarities with adaptive characters of the plant organs in the climatic conditions of the country of the cultivated plants and the native spontaneous flora.

The most important solved scientific problem in the thesis consist in the *elaboration* of the *in vitro* multiplication technology of the species *L. barbarum* L. and the obtaining of the uncontaminated, uniform and homogeneous quality propagating material for goji varieties in the climatic conditions of the Republic of Moldova. The planting material obtained through *in vitro* culture will *contribute* to the establishment of modern plantations in the Republic of Moldova and the organization in GBNI of the collection of fruit bushes.

The theoretical significance. The obtained results allow us to mention that, by using *in vitro* multiplication, it confirms the increase of the quantity of planting material and the improvement of its quality. Thus, this study highlighted the elucidation of biological features of plant growth and development based on phenological, biometric, anatomical and biochemical aspects in climatic conditions in the Republic of Moldova, data that would contribute to proper training of farmers on the use of drought-resistant and high-quality varieties.

The applicative value of the work The scheme of the technology for obtaining healthy and homogeneous planting material for goji varieties for the Republic of Moldova was elaborated. The research results are used in the Embryology and Biotechnology Laboratory of GBNI. The planting material obtained served as a source to initiate the creation of the collection of 5 goji varieties from GBNI: 'Amber Sweet', 'Erma', 'Ning Xia N1', 'New Big' and 'Licurici' (variety improved by scientific researchers of the Biotechnology and Embryology Laboratory of GBNI, is currently on the CSTSP test commission). In vitro multiplied goji plants can serve as planting material for the establishment of modern goji plantations in large areas of the Republic of Moldova.

Implementation of scientific results. Based on the scientific research carried out, the *in vitro* multiplication methods of the *L. barbarum* species were implemented applied in economic contracts made in the Laboratory of Embryology and Biotechnology. The results obtained from phenological and biochemical investigations will enrich the spectrum of the existing berry sector in the Republic of Moldova. At the same time, they represent scientific didactic material for the specialties: Botany, Ecology, Pharmacy and in educational institutions with botanical and agricultural profile, as well as contracts with private beneficiaries, farmers and amateurs interested in goji varieties.

DEZVOLTAREA ŞI MULTIPLICAREA MICROCLONALĂ A SPECIEI *LYCIUM BARBARUM* L. (GOJI)

164.01 BOTANICĂ

Rezumatul tezei de doctor în ştiinţe biologice

Aprobat spre tipar: *29 septembrie 2020*	Formatul hârtiei 60x84 1/16
Hârtie ofset. Tipar ofset.	Tiraj 50 ex
Coli de tipar: 1,0	Comanda nr. 27

© Tabăra Maria, 2020

Tipografia „REAL PRINT”
str. N. Dimo 29/2, Chişinău, MD-2004, Republica Moldova