

**INSTITUȚIA PUBLICĂ INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETĂRI
APLICATIVE ÎN AGRICULTURĂ ȘI MEDICINA VETERINARĂ**

Cu titlu de manuscris
CZU: 634.10:581.143.6 (478,9)

GENDOV NATALIA

**ELABORAREA PROCESULUI TEHNOLOGIC DE
MICROMULTIPlicARE A CLONELOR DE PORTALTOAIE
A SPECIILOR SĂMÂNȚOASE OMOLOGATE ȘI DE
PERSPECTIVĂ ÎN REPUBLICA MOLDOVA**

411.06 – POMICULTURĂ

Rezumatul tezei de doctor în științe agricole

CHIȘINĂU, 2025

Teza a fost elaborată în Laboratorul de Virusologie și Control Fitosanitar din cadrul Institutului Științifico - Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare (IȘPHTA), în prezent Instituția Publică Institutul Național de Cercetări Aplicative în Agricultură și Medicina Veterinară (IP INCAAMV).

Conducător științific:

RAPCEA Mihail, doctor habilitat în agricultură, profesor cercetător, IȘPHTA.

Consultant științific:

DONICA Ilie, doctor habilitat în agricultură, profesor cercetător, IȘPHTA.

Referenți oficiali:

PÂNTEA Maria, doctor habilitat în științe biologice, conferențiar cercetător, IP INCAAMV.

MANZIUC Valerii, doctor în științe agricole, conferențiar universitar, UTM.

Consiliului Științific Specializat a fost aprobat de către Consiliul de Conducere al ANACEC prin decizia nr. 1 din 15 noiembrie 2024, în următoarea componență:

BALAN Valerian, doctor habilitat în științe agricole, profesor universitar, UTM, **președinte**.

PEȘTEANU Ananie, doctor în științe agricole, conferențiar universitar, UTM, **secretar**.

DADU Constantin, doctor habilitat în științe agricole, profesor cercetător, IȘPHTA, **membru**.

SAVA Parascovia, doctor habilitat în științe agricole, conferențiar cercetător, IP INCAAMV, **membru**.

POPA Sergiu, doctor în științe agricole, conferențiar universitar, UTM, **membru**.

Susținerea va avea loc la 19 iunie 2025, ora 10⁰⁰, în ședința Consiliului Științific Specializat nr. D 411.06-24-119 de doctor din cadrul Universității Tehnice a Moldovei, MD 2049, mun. Chișinău, str. Mircești 48, bloc 14A, aula 201, Departamentul de Horticultură și Silvicultură, tel.: (+373 22) 432 304, fax: (+373 22) 312265.

Teza de doctor și rezumatul pot fi consultate la Biblioteca Universității Tehnice a Moldovei și pe pagina web a ANACEC (www.anacec.md).

Rezumatul a fost expediat la 13 mai 2025

Conducător științific,

RAPCEA Mihail, doctor habilitat în agricultură, profesor cercetător



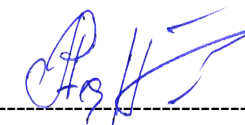
Consultant științific:

DONICA Ilie, doctor habilitat în agricultură, profesor cercetător



Secretar științific al Consiliului Științific Specializat,

PEȘTEANU Ananie, doctor în științe agricole, conferențiar universitar



Autor

GENDOV Natalia



CUPRINS:

REPERE CONCEPTUALE ALE TEZEI	4
CONȚINUTUL TEZEI	6
1. ANALIZA SITUAȚIEI ÎN DOMENIUL DEZVOLTĂRII METODELOR DE MICROMULTIPlicARE CLONALĂ A PLANTELOR	6
2. OBIECTE, CONDIȚII ȘI METODE DE CERCETARE ȘTIINȚIFICĂ	6
2.1. Obiectele și condițiile cercetărilor	6
2.2. Metodologia cercetărilor	7
3. ELABORAREA TEHNOLOGIEI DE MICROMULTIPlicARE A CLONELOR DE PORTALTOAIE A SPECIILOR SĂMÂNȚOASE	8
3.1. Introducerea explantelor în cultura <i>in vitro</i>	8
3.2. Multiplicarea microclonală a portaltoiurilor culturilor sămânțoase	11
3.3. Înfrăținarea microlăstarilor <i>in vitro</i>	16
3.4. Adaptarea microplantelor la condiții <i>ex vitro</i>	19
4. EFICIENȚA ECONOMICĂ A PLANTAȚIEI MAMĂ DE PORTALTOI CLONAL MM106	22
CONCLUZII	23
RECOMANDĂRI	24
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ	25
LISTA PUBLICAȚIILOR LA TEMA TEZEI	26
ADNOTARE (în română, rusă și engleză)	28

REPERE CONCEPTUALE ALE TEZEI

Actualitatea și importanța problemei abordate. Intensificarea industriei horticole necesită crearea unei baze durabile de clone a portaltoiurilor originale devirozate și transferul pepinierelor la producerea materialului săditor certificat [3, 8, 10, 25]. Plantațiile cultivate cu un astfel de material, fac posibilă maximizarea potențialului genetic - au longevitate și productivitate crescută, cu circa 25 - 30 %, comparativ cu plantațiile obișnuite. În Moldova se produce material săditor de înaltă calitate insuficient [8]. Pentru majoritatea soiurilor pomicele, pepinieriștii locali produc material săditor obișnuit. Crearea noilor plantații pomicele cu material obișnuit scade potențialul biologic, economic de producție, iar riscurile fitosanitare la importul de material săditor cresc [2, 11, 14, 24].

De aici rezultă, că dezvoltarea pepinierelor în Moldova și creșterea operativă a producției de material săditor de calitate superioară este o necesitate prioritară [13]. Un instrument puternic pentru aceasta este utilizarea micromultiplicării clonale a plantelor pomicele.

În multe regiuni ale lumii, mărul și părul sunt culturi industriale importante. În Moldova, plantațiile acestor specii sunt în scădere din an în an. Factorul limită în răspândirea acestor culturi este producția locală insuficientă de material săditor de înaltă calitate și lipsa unei game largi de portaltoi vegetativ de măr și păr. Cele redate mai sus determină prezența unei probleme, care necesită rezolvare și stimulează căutarea și producerea noilor biotipuri adaptate pentru zona ecologică și geografică a țării noastre.

Ca urmare a studiilor efectuate privind proprietățile economice și biologice ale noilor forme în pepiniera Institutului de Cercetări pentru Pomicultură, au fost identificate și propuse pentru dezvoltarea tehnologiei de micromultiplicare a biotipurilor promițătoare de păr și măr, care, împreună cu portaltoiul de măr omologat MM106, au devenit baza pentru dezvoltarea tehnologiei de propagare microclonală - portaltoi de măr 54 - 118; portaltoi de păr - Sydo și Pyriam. Alegerea în favoarea acestor biotipuri se datorează unei serii de caracteristici valoroase - bună compatibilitate cu soiurile pomicele, rezistență la carbonații din sol, toleranță la focul bacterian [12, 28].

Tehnologiile de micromultiplicare accelerată sunt utilizate pe scară largă în producția de material săditor. Viteza mare de înmulțire a plantelor *in vitro* și capacitatea de a lucra pe tot parcursul anului fac posibilă înmulțirea materialului săditor la cantitatea necesară într-un timp scurt la costuri optime și acoperirea deficitului de material, ce este extrem de necesar astăzi [8, 15]. Metoda dată ne permite să introducem rapid pe piața noi biotipuri și soiuri de plante care corespund standardelor internaționale fitosanitare și comerciale [7, 9]. Cele spuse mai sus au determinat direcția cercetărilor efectuate.

Scopul lucrării constă în elaborarea tehnologiei de micromultiplicare clonală a portaltoaielor de specii sămânțoase omologate și de perspectivă pentru implementare și utilizare ca metodă pentru producerea accelerată a materialului săditor de înaltă calitate pentru măr și păr.

Obiectivele cercetării :

1. elaborarea procedeeleor de sterilizare a vârfurilor apicale a portaltoaielor culturilor sămânțoase și condițiilor de regenerare a explanților sterili;
2. optimizarea mediului nutritiv pentru inițierea în cultura *in vitro* și multiplicării microclonale a portaltoaielor;

3. selectarea componentei chimice a mediului nutritiv, tipului de auxină, concentrației optime și modul de interacțiune asupra microlăstarului, care asigură un nivel de rizogeneză înalt la etapă înrădăcinării portaltoaielor cercetate;
4. studierea metodelor alternative de stimulare a proceselor de proliferare și rizogeneză a plantelor;
5. elaborarea procedeelelor efective de adaptare a plantelor de eprubetă la condițiile nesterile de seră.

Ipoteza de cercetare se bazează pe presupunerea că elaborarea tehnologiei de micromultiplicare clonală pentru portaltoiuri a speciilor sămânțoase (MM106, 54 -118, Sydo și Pyriam) va deschide noi perspective pentru cultivarea speciilor de măr și păr. Utilizarea tehnologiei va accelera studiile caracteristicilor biologice și valorii economice a noilor combinații soi - portaltoi, ce va permite introducerea în producție a unor biotipuri noi și extinderea listei portaltoiurilor clonali de păr și măr recomandate pentru utilizare în Moldova. Introducerea tehnologiei va extinde oportunitățile de dezvoltare a pepinierelor în republica și va permite într - un timp limitat înmulțirea în masă a portaltoiurilor studiate pentru creare plantațiilor mamă de categoria biologică Baza, ceea ce va permite creșterea producției de material săditor devirozate la nivel național.

Sinteza metodologiei de cercetare: metodologia cercetării științifice include un set de metode și tehnici utilizate pentru soluționarea problemelor abordate. Pe baza unei analize a multor ani de cercetări desfășurate în laboratorul de Virusologie al Institutului Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare, precum și a datelor disponibile din literatură, a fost formulată o abordare experimentală în selectarea agenților și a timpului de sterilizare; compoziția minerală și hormonală a mediilor nutritive, în conformitate cu obiectivele fiecărei etape a tehnologiei. Cercetarea implică tehnici de lucru acceptate cu culturile de țesuturi izolate și recomandări metodologice pentru propagarea culturilor pomicole folosind metoda de înmulțire microclonală. Pentru evaluarea rezultatelor obținute s-au folosit metode de analiză, de comparație, ilustrare grafică și tabelară a materialelor colectate, care au fost analizate prin prelucrarea matematică a datelor.

Noutatea și originalitatea lucrării: pentru prima dată în Republica Moldova a fost elaborată și prezentată tehnologia de înmulțire microclonală a portaltoaielor de perspectivă pentru păr Sydo și Pyriam (OH - 11) și măr 54 - 118, precum și pentru portaltoi omologat de măr MM106.

Valoarea aplicativă: implementarea tehnologiei elaborate în ciclul de producere a materialului săditor va contribui la multiplicarea accelerată a materialului de portaltoi sănătos, identic genetic, cu potențial biologic sporit; va accelera tranziția pepinierelor din țară către producerea de material săditor certificat; va deschide noi perspective pentru cultivarea unor specii atât de importante precum mărul și părul.

Aprobarea rezultatelor cercetării: investigațiile efectuate au fost examinate și aprobate în dările de seamă anuale la Consiliul Științific al Institutului de Cercetări pentru Pomicultură, 2005 - 2007 și la ședința lărgită laboratorului de Virusologie și Control Fitosanitar a culturilor horticole în cadrul IȘPHTA 2024. Rezultatele obținute

pe parcursul efectuării cercetărilor au fost prezentate în cadrul a 6 conferințe naționale și internaționale.

Publicații la tema tezei: rezultatele cercetării și problemele abordate în teză au fost publicate în 13 lucrări științifice, inclusiv 4 articole în reviste științifice, 6 articole în culegeri la manifestări științifice naționale și internaționale și 3 în alte culegeri de lucrări editate în Republica Moldova.

Structura tezei: teza este prezentată pe 155 pagini de text de bază și include introducere, 4 capitole, sinteza rezultatelor obținute, concluzii și recomandări practice, 52 tabele, 11 figuri, 265 surse bibliografice, 6 anexe.

Cuvinte cheie: ramură pepinieristică, material devirozate, portaltoi clonal, măr, păr, *in vitro*, medii nutritive, multiplicare microclonală, înrădăcinare, acclimatizare.

1. ANALIZA SITUAȚIEI ÎN DOMENIUL DEZVOLTĂRII METODELOR DE MICROMULTIPLICARE CLONALĂ A PLANTELOR

Capitolul dat descrie aspectele principale ale metodelor de multiplicare microclonală *in vitro* - analiza, stadiul cunoștințelor și aplicarea metodei culturii de țesuturi în practica mondială a înmulțirii plantelor. Sunt reflectate etapele din istoria dezvoltării metodei de la începuturi până în prezent.

Capitolul prezintă experiențele cercetătorilor în cultivarea diferitelor specii de plante în condiții de cultură a țesuturilor; efectivitatea metodelor pe care le-au folosit, problemele apărute în timpul lucrului și influența lor la rezultatele obținute. Se acordă o atenție deosebită gradului de cunoaștere a înmulțirii microclonale a portaltoiurilor clonali ai culturilor sămânțoase - se analizează sortimentul de biotipuri studiate; este afișată o privire de ansamblu asupra datelor prezentate în literatura de specialitate pentru fiecare etapă tehnologică. S-au făcut concluzii și a fost elaborată o strategie pentru cercetări ulterioare.

2. OBIECTE, CONDIȚII ȘI METODE DE CERCETARE ȘTIINȚIFICĂ

2.1. Obiectele și condițiile cercetărilor. Materialul biologic utilizat în procesele de cercetare îl reprezintă portaltoaiile speciilor sămânțoase omologate și de perspectivă în Republica Moldova: de măr 54-118 și MM106, de păr Sydo și Pyriam (OH-11).

Cercetările au fost efectuate în laboratorul de Virusologie și Control Fitosanitar din cadrul Institutului de Cercetări pentru Pomicultură pe parcursul anilor 2004 - 2007 și au fost continuate în 2019-2022 în cadrul Institutului Științifico - Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare (în prezent IP INCAAMV).

Plantele inițiale ale portaltoaielor studiate au fost testate la prezența principalelor virusuri care afectează aceste specii, conform sistemului internațional de certificare a materialului săditor.

În calitate de material inițial au fost utilizate vârfurile lăstarilor cu dimensiunile de 4 - 8 mm, selectate de pe plantele în stare de vegetare la stadia de creștere activă (mai) și de la lăstării stimulați la vegetare artificial (februarie). Plantele au fost cultivate la temperatura aerului de + 22 +24 °C, iluminarea de 3 - 4 mii de lux și fot perioada de 16 ore. Plantele au fost replantate la fiecare 4 - 5 săptămâni.

Experimentele s-au bazat pe metode clasice de lucru cu cultura de țesuturi izolate și organe vegetale (conform lui Chernets A. [31], Turovskaya N., [30], Matushkina O. [22], Pronina I. [23].)

2.2. Metodologia cercetărilor. În calitate de sterilizator superficial a fost utilizat hipoclorida de calciu de 3 și 6 %; clorura de mercur de 0,05 și 0,1 %; peroxid de hidrogen 10, 15 și 30 %; Tabidez 56 (sodium dichloroisocyanurate) - 0,5 % prin expoziție de la 2 până la 25 de minute.

La etapa de introducere în cultură *in vitro* pentru cultivarea explantelor sau utilizat mediul nutritiv Murashige-Skoog (MS), mediul modificat Murashige-Skoog cu concentrație scăzută a macro-sărurilor minerale și mediului Lloyd și McCown (WPM). La etapa aceasta compoziția mediilor nutritive a fost suplimentată cu mezo-inozitol - 100 mg/l; acid ascorbic - 10 mg/l; piridoxină - 0,5 mg/l, acid nicotinic - 0,5 mg/l; clorură de tiamină - 0,5 mg/l; agar - agar - 6 g/l, zaharoză - 30 g/l.

Pe baza unui mediu nutritiv modificat MS, a fost studiat efectul a 7 combinații de stimulatori hormonal de creștere în diferite concentrații. S-a determinat influența factorilor studiați - stimulatori de creștere (factorul A), genotipul portaltoiului (factorul B) și interacțiunea acestor factori (AB) asupra dezvoltării explantelor. Pentru cercetarea dependenței de dezvoltare a explantelor de concentrația stimulatorilor creșterii la mediul nutritiv a fost adăugat 6-benzilaminopurină (BAP) 0,5 - 1 mg/l și acid 3-indolilbutiric (IBA) 0,1; 0,5; 1 mg/l.

Pentru a reduce efectul inhibitor al oxidării fenolice a fost studiat efectul antioxidantilor și preparatelor pentru detoxificare asupra prevenirii proceselor de oxidare polifenolică: PEG 5 % m.m. 6000; m.m. 20000; PEG 15 % m.m. 6000; PVP 5 % m.m. 30000; DIECA 0,05 %; acid ascorbic 0,01 %.

La etapa micromultiplicării clonale au fost studiate mediile nutritive după receptura MS cu concentrația NH_4NO_3 deplină și scăzută de 2 ori, WPM și Gamborg (B5). Selectând conținutul optimal a preparatelor pentru reglarea creșterii cu scopul obținerii coeficientului maximal de multiplicare, în mediul nutritiv sa introdus BAP 0,5; 1; 2; 3 mg/l și IBA 0,5; 1 mg/l.

Pentru determinarea dependenței coeficientului de multiplicare a portaltoaielor culturilor sămânțoase față de orientarea lor în spațiu, a fost cercetată plasarea microlăstarilor pe suprafața mediului nutritiv în poziție orizontală și verticală.

La cercetarea efectului acidului giberelinic (GA_3) asupra dezvoltării plantelor în condiții *in vitro* el a fost introdus în mediul nutritiv în concentrație de 0,5; 1; 2; 4; 8 mg/l.

Înrădăcinarea lăstarilor sa efectuat cu utilizarea mediului Murashige-Skoog cu conținutul de minerale scăzut de două ori și IBA în concentrație de 0,5; 1; 3; 4; 5 mg/l și fără adaos de auxin IBA. În unele variante sa efectuat saturarea pe parcursul a 7 zile pe mediul nutritiv cu auxina, cu replantarea ulterioară pe mediul fără hormoni.

În calitate de remediu adăugător pentru stimularea formării rădăcinilor a fost cercetată posibilitatea înrădăcinării plantelor pe mediul nutritiv lichid cu utilizarea suporturilor din hârtie de filtru. Ca auxină a fost utilizată IBA 0,5; 1; 3 mg/l.

În calitate de inductori a rizogenezei au fost cercetate preparatele acid indole-3-acetic (IAA) și α -acidul naftilacetic (NAA). Pentru determinarea influenței micro și

macroelementelor asupra procesului de rizogeneză, în schema experiențelor au fost incluse $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$ din concentrațiile sărurilor după receptura Murashige-Skoog. Suplimentar sa studiat modificările de conținut a unor grupe separate de elemente minerale în mediile nutritive referitor la procesul de înrădăcinare. Sa studiat scăderea de 2 și 4 ori a conținutului de NH_4NO_3 și KNO_3 în mediul nutritiv, scăderea de 2 ori a concentrației de Mg, Ca și P și de asemenea procentul de înrădăcinare a portaltoaielor în dependența de concentrația microsărurilor în mediul nutritiv.

A fost analizat rolul cărbunelui activat în calitate de absorbent a substanțelor care inhibă procesul de rizogeneză. În mediul nutritiv cu conținut de IBA 3 mg/l sa introdus cărbune activat în cantitate de 125, 250, 500 și 1000 mg/l.

La etapa adaptării plantelor sterile la condiții *ex vitro* sau studiat 6 tipuri de substrat pentru replantare care includ amestecuri de diferite componente naturale ale căror criterii principale au fost fixarea stabilă și creșterea activă a plantelor. Substraturi cu un singur strat - torf : perlită (1:1), torf : nisip (2:1) și substraturi cu două straturi la care în calitate de strat superior a fost utilizată perlită fracția până la 1 mm în diametru, de la 1 până la 3 mm, de la 3 până la 5 mm; în calitate de stratul de jos sa utilizat amestecul torf : perlită (1:1).

Sa studiat stimularea creșterii și dezvoltării plantelor, asigurarea calității portaltoiurilor în dependența de aplicarea îngrășămintelor minerale. Pe parcursul vegetației sau aplicat prelucrări foliare cu Polyfeed 0,5 și 1 % cu intervalul de 15 zile și prelucrări radiculare cu soluția Murashige-Skoog, NH_4NO_3 1% sau Polyfeed 0,5 și 1 % cu intervalul de 10, 15 și 20 de zile.

La etapa de aclimatizare au fost efectuate cercetări pentru determinarea dependenței prinderii plantelor *ex vitro* de condițiile de inducție a rizogenezei.

Pe parcursul experimentului sau înregistrat și sau analizat următoarele particularități: dezvoltarea și majorarea dimensiunilor explantelor, formarea frunzelor și mugurilor; coeficientul de multiplicare; înălțimea medie și maximală a microplantelor; lungimea medie și numărul rădăcinilor la o plantă; dinamica creșterii la aclimatizare.

Prelucrarea statistică a principalilor indicatori s-a efectuat prin metoda de analiză de dispersie monofactorială și bifactorială. Rezultatele experimentale au fost prelucrate cu utilizarea programei de Microsoft Office Excel 2019.

3. ELABORAREA TEHNOLOGIEI DE MICROMULTIPLICARE A CLONELOR DE PORTALTOAIE A SPECIILOR SĂMÂNȚOASE

3.1. Introducerea explantelor în cultura *in vitro*

La etapa inițială a micromultiplicării clonale un factor de primă importanță este obținerea materialului vegetal steril. La rândul său, succesul prelucrărilor de dezinfectare în mare parte depinde de originea, tipul explantelor, starea lor fiziologică.

A fost analizată raționalitatea inițierii în cultura *in vitro* a portaltoaielor de măr și păr în diferite perioade a anului - în februarie (vârfurile plantelor trezite din repaus) și în mai (vârfuri active vegetative). În rezultatul cercetărilor sa determinat că vârfurile tinere ale lăstarilor cu germinare artificială au un nivel scăzut de contaminare cu microorganisme - numărul explantelor inițiate fără infecție bacteriană și fungică a fost

mare, iar introducerea lor în cultura *in vitro* a depins mai puțin de agentul sterilizator, ceea ce a permis utilizarea cu succes a preparatelor cu toxicitate scăzută. La sterilizarea acestui tip de explante cu hipoclorit de calciu 6 % timp de 10 minute, am putut obține o cultură aseptică de 58 până la 80 %.

În timpul perioadei de vegetație, odată cu creșterea activității microorganismelor, a crescut și rata de infectare a materialului vegetal. În unele cazuri pentru a obține rezultate bune de sterilizare a fost necesară utilizarea clorurii de mercur (HgCl_2). Prelucrarea explantelor de măr într-o soluție de 0,1 % timp de 5 minute a crescut numărul de explante sterile până la 63 – 79 %. Cu toate acestea, având în vedere riscurile utilizării preparatelor cu mercur, am abandonat utilizarea ulterioară a acestuia. În acest scop, au fost testate sterilizatoare mai puțin toxice (fig. 3.1). Utilizarea unora dintre ele poate fi o alternativă demnă în locul utilizării unui preparat toxic cu mercur.

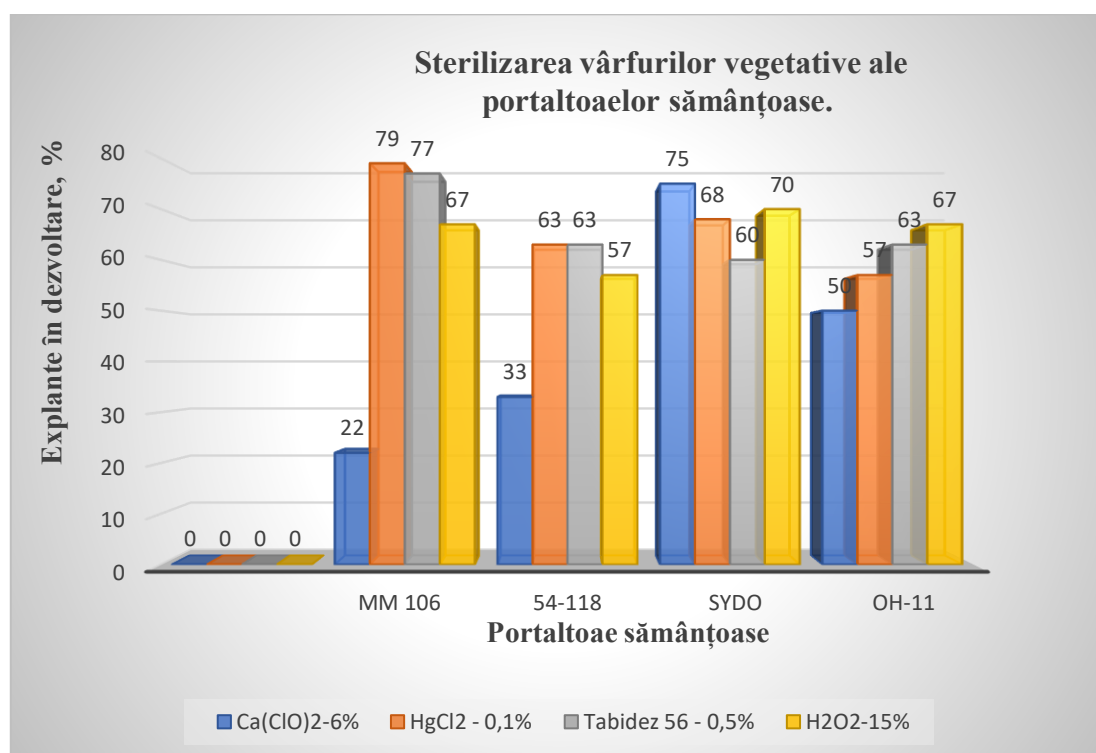


Figura 3.1. Sterilizarea vârfurilor vegetative ale portaltoaielor sămânțoase

Portaltoii de păr au fost sterilizate eficient utilizând Perhidroli 15 % - 70 % explante în dezvoltare la portaltoiul Sydo și 67 % explante la Pyriam (OH-11). Pentru portaltoiul Sydo utilizarea soluției de $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ – 6 % a fost de asemenea eficientă (fig.3.1). Explantele de portaltoi de măr au fost sterilizate cu succes cu Tabidez 56 - s-au obținut de la 63 până la 77 % explante aseptice [8]. În rezultatul analizei matematice a datelor, s-a dovedit că dintre toți factorii studiați, schema de sterilizare a avut o influență esențială asupra numărului de explante în curs de dezvoltare și asupra nivelului de necotizare a acestora. Acest lucru evidențiază importanța testării sterilizatorilor pentru a obține rezultate bune.

Au fost stabilite diferențe genotipice între portaltoai. Portaltoii de măr MM106 și 54-118 s-au remarcat prin rezistența la efectele nocive ale sterilizatorilor și prin capacitatea lor de a se recupera și de a se dezvolta în continuare în comparație cu alți portaltoi. Numărul mediu a explantelor afectate la portaltoaiile de pere a ajuns la 5,5 -

22,5 %, în timp ce la portaltoaiile de mere aceasta a fost absentă sau nu a depășit 13,5%.

Mărul, comparabil cu alte specii, se afectează puternic de procesele de oxidare polifenolică, care provoacă reținerea dezvoltării explantelor iar uneori și pierderea lor. Efectul de oxidare a crescut cu afectarea țesuturilor în timpul izolării. S-a stabilit efectul pozitiv al antioxidanților și al preparatelor pentru neutralizarea factorilor de inhibare asupra stării explantelor [18]. Proprietățile protectoare au crescut odată cu creșterea timpului de contact cu țesuturile vegetale. Numărul de explante regenerante aproape sa dublat în variantă în care tratamentul pe termen scurt cu o soluție de PEG 5 % m.m. 6000 înainte de izolare a fost înlocuit cu efectuarea tuturor lucrărilor de extragere a părții apicale într-o soluție de PEG 5 %. În variantele, unde sau utilizat soluții de PEG 5 % m.m. 6000 sau m.m. 20000; PEG 15 % m.m. 6000; PVP 5 % m.m. 30000; DIECA 0,05 % simptomele de oxidare polifenolică au fost slabe, care nu au reprezentat o amenințare evidentă pentru dezvoltarea explantelor sau nu au fost observate.

Studierea dezvoltării explantelor pe baza utilizării diferitor medii nutritive în procesul de inițiere *in vitro* a demonstrat, că capacitatea de regenerare a portaltoaiile studiate depinde în direct de componența minerală a mediului nutritiv (tab.3.1).

Tabelul 3.1. Acțiunea componentelor minerale a mediului nutritiv asupra dezvoltării explantelor portaltoiurilor culturilor sămânțoase

Port-altoiul	Mediile nutritive:	Starea explantelor conform fazelor de dezvoltare (%)				Total explante în dezvoltare, (%)
		Explantul fără dezvoltare	Creștere în lungime, dezvoltarea a 2-3 frunze	Rozetă cu frunze și muguri în dezvoltare	Conglomerat de muguri și lăstări	
		1 fază	2 fază	3 fază	4 fază	
MM 106	MS	6,7	20,0	53,3	20,0	73,3
	MS*	6,7	26,7	40,0	26,0	66,0
	WPM	6,7	33,3	53,3	6,7	60,0
54 - 118	MS	13,3	40,0	33,4	13,3	46,7
	MS*	6,7	13,3	53,0	27,0	80,0
	WPM	20,0	26,7	40,0	13,3	53,3
Pyriam	MS	10,0	50,0	40,0	0,0	40,0
	MS*	30,0	50,0	20,0	0,0	20,0
	WPM	70,0	20,0	10,0	0,0	10,0
Sydo	MS	10,0	40,0	30,0	20,0	50,0
	MS*	0,0	30,0	60,0	10,0	70,0
	WPM	20,0	50,0	30,0	0,0	30,0
*- MS modificat						

Starea vârfurilor sterile a fost evaluată în funcție de fazele de dezvoltare [21, 30]. Explantele care au ajuns în faza 3 - 4 de dezvoltare au fost de valoare. Acesta a fost un criteriu de selectare a mediului nutritiv.

Este stabilit, că dezvoltarea portaltoiului 54 - 118 și Sydo cel mai efectiv decurge pe mediul nutritiv cu receptura MS modificat, unde concentrația macrosărilor este

scăzută de două ori (tab. 3.1). 70 - 80 % din explantele sterile izolate au atins un nivel bun de dezvoltare [19]. Nu mai mult de 6% dintre vârfuri nu s-au dezvoltat, iar aceasta este cu 13 – 20 % mai puțin decât majoritatea celorlalte opțiuni. Portaltoiul de măr MM106 și pere Pyriam s-au dezvoltat mai bine pe un mediu nutritiv cu o concentrație crescută de săruri minerale - MS în original.

Explantele de Pyriam sau evidențiat printr-o dezvoltare lentă. Până la sfârșitul primului pasaj, nici unul dintre ei nu a atins nivelul maxim de dezvoltare, în ciuda faptului că explantele erau viabile și în stare bună. Doar 40 % din materialul inițiat a format o rozetă cu frunze cu rudimente de muguri.

Selectarea proporțiilor optime ale substanțelor hormonale în componența mediului nutritiv este cel mai eficient mod de inducție a formelor diferite de morfogeneză. În urma studiilor, s-a constatat că pentru dezvoltarea explantelor primare ale tuturor portaltoaielor studiate, a fost de preferat o concentrație crescută de citochinină în mediul nutritiv. Folosirea BAP la o concentrație de 1 mg/l a creat condițiile optime pentru regenerare - de la 66 până la 80 % din explantele în curs de dezvoltare au fost obținute la portaltoaiile MM106, 54 - 118, Sydo [19]. Pentru portaltoiul Pyriam, cele mai bune rezultate au fost obținute cu o combinație de BAP 1 mg/l și IBA 0,5 mg/l (tab. 3.2). La această etapă adăugarea de auxină în mediul de creștere nu a fost necesară, cu excepția părului Pyriam. Influența factorilor studiați asupra regenerării explantelor primare a fost de 88 % pentru factorul A (concentrația stimulatorilor de creștere), 3 % pentru factorul B (portaltoi) și 3,37 % pentru interacțiunea acestor factori.

Tabelul 3.2. Dezvoltarea explantelor în funcție de concentrația de auxină și citochinină în mediul nutritiv

N:	Concentrația BAP : IBA (mg/l) (factorul A)	Explante în dezvoltare (%): (factorul B)				Media prin factorul A DL 0,05 = 7,9
		MM 106	54-118	Sydo	Pyriam	
1	0,5 : 0	53,0	46,6	20	0	29,9
2	0,5 : 0,1	53,0	53,3	20	0	31,5
3	0,5 : 0,5	39,6	40,0	50	0	32,4
4	1,0 : 0	66,0	80,0	70	20	59,0
5	1,0 : 0,1	66,6	66,3	60	20	53,2
6	1,0 : 0,5 (M)	66,7	53,3	60	30	52,5
7	1,0 : 1,0	47,0	46,7	50	10	38,4
Media prin factorul B DL 0,05 = 5,58		53,98	53,61	45	11,25	-
DL 0,05 = 15,8						

M - martor

La utilizarea de floroglutinol, în calitate de component suplimentar în mediul nutritiv, regenerarea apexurilor decurgea slab, s-a diminuat semnificativ creșterea și dezvoltarea aparatului foliar.

3.2. Multiplicarea microclonală a portaltoiurilor culturilor sămânțoase

Scopul etapei de multiplicare microclonală este obținerea unui număr maximal de lăstări suplimentare de la fiecare explant inițial. Formarea de noi microlăstări și parametrii acestora sunt foarte influențați de compoziția minerală a mediului nutritiv.

În căutarea unei compoziții care să stimuleze procesul de proliferare la portaltoi studiați, am testat mediile nutritive cel mai frecvent utilizate pentru culturile pomicole [4, 5, 6, 26, 29].

Pentru portaltoi MM106 și Pyriam, compoziția de macro și microsăruri conform MS a fost optim (tab. 3.3, 3.4). Microlăstarii mărilor au format în medie 3 lăstari suplimentari, iar perii au format 2,8 lăstari. Rata maximă de multiplicare a portaltoiului Sydo a fost realizată pe mediul MS cu un conținut redus de NH_4NO_3 , s-au format în medie 4,4 lăstari noi. La portaltoiul 54-118, proliferarea a avut loc în mod activ pe un mediu nutritiv WPM - în medie, s-au format 3,7 lăstari suplimentari, ceva mai slab pe MS cu $\frac{1}{2} \text{NH}_4\text{NO}_3$ - 2,9 lăstari.

Tabelul 3.3. Influența componentei minerale a mediilor nutritive asupra coeficientului de multiplicare a portaltoiurilor de măr

Mediul nutritiv (factorul B)	Parametrii de calitate (factorul A)							
	Lăstări suplimentari, buc		Coeficientul de multiplicare		Lungimea medie a lăstarului, cm		Lungimea maximă a lăstarului, cm	
	MM106	54-118	MM106	54-118	MM106	54-118	MM106	54-118
MS (M)	60	46	3,0	2,3	1,1	1,4	2,5	4,0
MS, $\frac{1}{2}$ NH ₄ NO ₃	56	62	2,8	2,9	0,8	1,0	2,0	3,8
MS fără hormoni	12	22	0,6	1,1	0,9	0,7	1,2	1,0
B 5	44	56	2,2	2,8	1,1	1,5	2,2	5,0
WPM	56	74	2,8	3,7	0,6	0,7	1,8	3,2
Media după parametrii	45,6	52	2,28	2,56	0,9	1,06	1,94	3,4
DL 0,05	4,35		0,87		0,27		0,98	
M - martor								

Înălțimea medie a lăstarilor la ambele biotipuri de măr și Pyriam a variat în intervalul de 0,6 - 1,5 cm. Sydo se distinge vizibil prin lăstarii săi alungiți, a căror înălțime medie era în intervalul 1,5 - 3,4 cm (tab. 3.3, 3.4).

Tabelul 3.4. Influența componentei minerale a mediilor nutritive asupra coeficientului de multiplicare a portaltoiurilor de păr

Mediul nutritiv (factorul B)	Parametrii de calitate (factorul A)							
	Lăstări suplimentari, buc		Coeficientul de multiplicare		Lungimea medie a lăstarului, cm		Lungimea maximă a lăstarului, cm	
	Sydo	Pyriam	Sydo	Pyriam	Sydo	Pyriam	Sydo	Pyriam
MS (M)	73	34	3,7	2,8	3,4	1,0	5,5	2,0
MS, ½ NH4NO3	88	30	4,4	2,5	2,7	0,9	5,5	1,8
WPM	54	22	2,7	1,8	1,5	0,7	2,5	1,5
Media după parametrii	71,6	28,6	3,6	2,3	2,5	0,86	4,5	1,76
DL 0,05	7,2		1,5		0,75		1,03	
M - martor								

Este specific pentru culturile pomicele sensibilitatea diferită la acțiunea citochininelor și auxinelor. Utilizarea altor concentrații (mai mari sau mai mici) ale acestor substanțe decât cea optimă, influențează negativ asupra potențialului de multiplicare și nivelul de dezvoltare a microlăstarilor. Am efectuat studii pentru a stabili concentrațiile eficiente de citochinină și auxină, ținând cont de cerințele individuale ale portaltoilor studiați.

Tabelul 3.5. Influența concentrației de auxină și citochinină în mediul nutritiv asupra proliferării portaltoiurilor culturilor sămânțoase

Concentrația BAP : IBA (mg/l) factorul A	Portaltoiurile - factorul B				Media factorilor A ($F_p < F_k$)
	Coeficientul de multiplicare MM106	Coeficientul de multiplicare 54 - 118	Coeficientul de multiplicare Pyriam	Coeficientul de multiplicare Sydo	
0,5: 0	1,7	5,0	1,3	3,0	2,75
1,0: 0	1,6	2,4	3,3	3,5	2,70
3,0: 0	2,0	1,2	2,5	3,8	2,37
1,0: 0,5 (M)	2,6	2,3	2,4	3,4	2,67
1,0: 0,5''	1,7	3,7	2,8	3,6	2,95
2,0: 0,5	4,5	1,3	2,6	2,8	2,80
3,0: 0,5	1,5	1,2	3,0	2,5	2,05
Media factorilor B DL 0,05 = 0,28	2,25	2,55	2,46	3,9	-
DL 0,05 = 0,93					

''- IBA a fost înlocuit cu NAA

M - martor

Conform datelor obținute multiplicarea de succes a portaltoiului de măr 54 - 118 se efectuează pe mediul nutritiv la introducerea BAP 0,5 mg/l (tab. 3.5). În acest caz fiecare lăstar inițial produce câte 5 lăstări suplimentari cu lungimea medie de 0,7 cm. Dar cu cultivarea portaltoiului pe termen lung pe aceeași compoziție, se observă o scădere treptată a proliferării, care poate fi eliminată prin creșterea periodică a concentrației de citochinină sau introducerea suplimentară auxinei (IBA sau NAA) în mediu. Pentru multiplicarea portaltoiului MM106 cea mai efektivă a fost concentrația BAP 2 mg/l, IBA 0,5 mg/l - coeficient de multiplicare 1:4,5 [8]. Portaltoiul Pyriam a avut un coeficient de multiplicare de 3,3 când se introduce în mediu 1 mg/l BAP; Sydo - 3,8 când se introduce în mediu BAP 3 mg/l (fig. 3.2).



Figura 3.2. Micromultiplicarea portaltoiului Sydo (pe stânga) și 54-118 (pe dreapta) în condiții *in vitro*

În studiile noastre, cea mai mare influență asupra reproducerii portaltoiurilor studiate a fost exercitată de interacțiunea a doi factori - biotip și concentrația stimulatorilor de creștere. În acest caz ponderea de influență a fost de 50,62 %.

A fost studiată o posibilitate alternativă de a spori proliferarea microplantelor, prin modificarea formei de creștere a lăstarilor portaltoaielor pe suprafața mediului nutritiv. În poziție orizontală lăstării MM106 cu vârful înlăturat și frunzele laterale formau 7,2 lăstări suplimentari, iar 54-118 - 8,8 lăstări, în timp ce în poziția verticală acest indice era numai de 2,6 și 2,3 lăstări corespunzător (tab. 3.6). În cazurile în care un lăstar cu un vârf înlăturat a fost împărțit în segmente de până la 1 cm lungime, s-au obținut 5,5 lăstări suplimentari din portaltoiul MM106 și 6 lăstări de la 54 - 118.

Tabelul 3.6. Coeficientul de multiplicare în dependența de orientarea lăstarilor pe mediul nutritiv*

Portaltoiul:	Opțiuni de experiență	Cantitate lăstari, buc.	Coeficientul de multiplicare	Lungimea medie a lăstarului, cm	Lungimea lăstarului de la 1 cm, %
MM106	1 (M)	21	2,6	0,5	20
	2	21	7,2	1,2	49
	3	21	5,5	1,0	45
54 - 118	1 (M)	21	2,3	0,8	43
	2	21	8,8	0,8	37
	3	21	6,0	0,7	29
Pyriam	1 (M)	21	2,4	0,8	10
	2	21	3,3	1,2	30
	3	21	1,5	0,9	20
Sydo	1 (M)	21	3,4	2,9	85
	2	21	4,7	3,5	93
	3	21	1,2	2,6	73

*- mediul nutritiv MS completat BAP - 1 mg/l, IBA - 0,5 mg/l

M - martor

Opțiuni de experiență:

1- plantarea verticală a lăstarilor.

2- plantarea orizontală a lăstarilor de 1,5-2 cm lungime cu vârful și frunzele laterale îndepărtate

3- plantarea orizontală a lăstarilor de până la 1 cm lungime.

La portaltoiurile pentru păr influența orientării microlăstarilor asupra capacității de proliferare este mai puțin evidențiată. La plantarea lăstarilor alungiți pe orizontală, la Pyriam și Sydo s-au obținut 3,3 și 4,7 lăstări suplimentari. Segmentele de lăstări de până la 1 cm au proliferat mai greu decât controlul.

Succesul etapei de rizogeneză și aclimatizării ulterioare la condiții nesterile depinde de calitatea microlăstarilor, care trebuie bine dezvoltati, cu o lungime de cel puțin 15 mm. Pentru a atinge aceste condiții, am studiat efectul GA₃ adăugat în mediul nutritiv la ultimul pasaj înainte de înrădăcinare (fig. 3.3).

Ca urmare, s-a constatat că pe un mediu nutritiv cu GA₃ la o concentrație de 0,5 mg/l până la 1 mg/l în combinație cu BAP 1 mg/l s-a obținut numărul maxim de microlăstări alungiți. O creștere a conținutului de citochinină și giberelină în mediul nutritiv nu a fost rațional, a scăzut proporțional numărul de plante cu o înălțime mai mare de 15 mm.

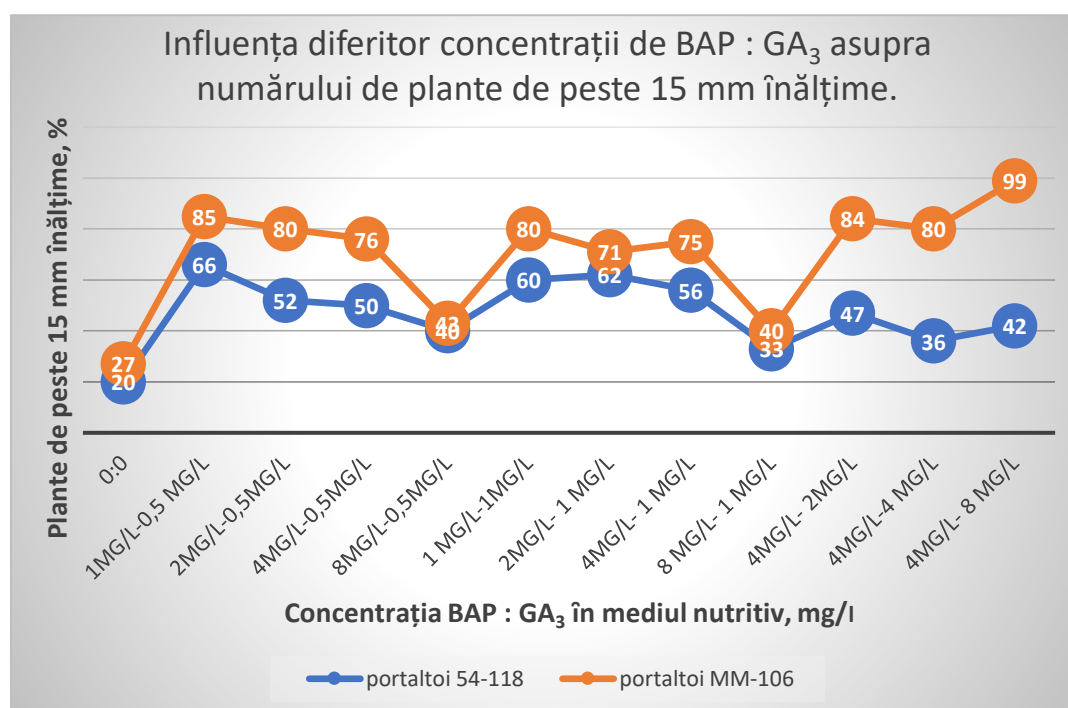


Figura 3.3. Influența diferitor concentrații de BAP și GA₃ asupra numărului de plante de peste 15 mm înălțime

Eficiența utilizării GA₃ înainte de etapă de înrădăcinare a microlăstarilor este confirmată de schemele noastre experimentale de alungire (tab. 3.7).

Tabelul 3.7. Influența concentrațiilor reduse de stimulatori de creștere asupra înălțimii microlăstarilor în period de alungire

Portal- toiul	Indicatori studiat:	Concentrația BAP: IBA: GA ₃ , mg/l.			
		1: 0,5: 0,2 (M)	0,5 : 0,5 : 0,2	0,5 : 0,5 : 1	0,3 : 0,3 : 0,1
MM106	Lungimea medie a lăstarului înainte de plantare, cm	0,7	0,7	0,7	0,7
	Coeficient de multiplicare	2,6	2,0	2,2	1,5
	Lungimea medie după alungire, cm	1,0	1,2	1,6	1,0
54 - 118	Lungimea medie a lăstarului înainte de plantare, cm	0,7	0,7	0,7	0,7
	Coeficient de multiplicare	2,5	2,9	2,4	2,2
	Lungimea medie după alungire, cm	1,0	1,5	1,8	1,5
Pyriam	Lungimea medie a lăstarului înainte de plantare, cm	0,7	0,7	0,7	0,7
	Coeficient de multiplicare	2,0	1,8	1,6	1,3
	Lungimea medie după alungire, cm	1,2	1,5	2,0	1,7

Mediile nutritive au conținut BAP în concentrația 1 - 0,3 mg/l, IBA 0,5 - 0,3 mg/l, GA₃ 0,2 - 1 mg/l. A fost posibil să se realizeze alungirea maximă microlăstarilor numai cu un conținut redus de citochinină în același timp cu conținut crescut a giberelinei în mediu. GA₃ 0,2 mg/l în combinație cu BAP 0,5 mg/l a stimulat creșterea lungimii medii a lăstarilor până la 1,2 - 1,5 cm. Efectul maxim a fost obținut atunci când concentrația de GA₃ a fost crescută de 5 ori - înălțimea medie a lăstarilor s-a apropiat de înălțimea necesară pentru toți portaltoi testati. În plus, fiecare lăstar inițial de MM106 a format 2,2 lăstari suplimentari cu o înălțime medie de 1,6 cm; portaltoiul 54-118 - 2,4 lăstari suplimentari cu înălțimea de 1,8 cm; Pyriam - 1,6 lăstari suplimentari de 2 cm înălțime. Cultivarea microlăstarilor pe astfel de medii nutritive a făcut posibilă îmbunătățirea dezvoltării lor, a stimulat creșterea plantelor în înălțime, creșterea diametrului tulpinii și a stimulat dezvoltarea frunzelor; de asemenea, a ajutat la evitarea acumulărilor inutile de citokinine în țesuturile plantelor înainte de rizogeneză.

Astfel, folosind combinația optimă de GA₃ și BAP, a fost posibil controlul proceselor de creștere a plantelor și obținerea de la 66 la 85 % din plante care îndeplinesc cerințele următoarei etape a tehnologiei de multiplicarea *in vitro*.

3.3. Înradăcinarea microlăstarilor *in vitro*

Luând în considerare diferențele genotipice ale portaltoaielor, la etapă de înradăcinare a microlăstarilor a fost studiat efectul stimulator a trei tipuri principale de auxine (IBA, IAA, NAA). La majoritatea portaltoaielor studiate sub influența IBA, activitatea rizogeneză a fost de 1,5 - 2 ori mai mare. Pentru portaltoiul Sydo, utilizarea IBA și NAA a fost echivalentă. Conform rezultatelor analizei matematice, succesul înradăcinării microlăstarului a depins cu 46 % de auxina utilizată; cu 19 % de caracteristicile individuale a biotipurilor înradăcinate. Influența interacțiunii acestor factori asupra procesului de rizogeneză a fost de 27 %.

Potențialul de înradăcinare al lăstarilor pe medii nutritive cu diferite concentrații de macro și micro săruri a fost studiat folosind exemplul portaltoaielor de măr. În timpul experimentului, o creștere a formării rădăcinilor a fost clar vizibilă la concentrațiile de macrosăruri în mediile nutritive reduse la jumătate. Înradăcinarea portaltoiului de măr MM106 a crescut cu aproximativ 10 - 20 %, iar portaltoiul 54-118 cu 15 - 30 % comparativ cu alte opțiuni experimentale. Modificarea concentrației de microsăruri în mediul nutritiv nu a avut un efect decisiv asupra rizogeneză lăstarilor.

Prezența zaharozei în mediul nutritiv pentru înradăcinare a fost obligatorie. Rezultatele noastre au fost în concordanță cu datele altor cercetători [23]. În condiții de excludere completă a carbohidraților din mediul nutritiv, rizogeneză a fost minimă.

Au fost studiate mai multe metode de inducere a formării rădăcinilor în combinație cu diferite concentrații de auxine. În majoritatea cazurilor, rizogeneză a decurs mai eficient cu adăugarea directă de auxine în mediul nutritiv.

La portaltoaiile de măr, procesele de înradăcinare au avut loc mai rapid și au fost mai active decât la portaltoaiile de păr. S-a stabilit că înradăcinarea bună a portaltoiului 54-118 a fost observată sub influența IBA 0,5 mg/l (tab. 3.8). În această variantă s-au obținut 80 % din plantele calitative, cu un sistem radicular dezvoltat.

Pentru portaltoaiile MM106 și Pyriam, nivelul maxim de rizogeneză a fost realizat pe mediu cu IBA 3 mg/l - respectiv 75 - 60 % din lăstari au prins rădăcini.

Pentru Sydo, soluția optimă a fost saturarea microlăstarilor pe un mediu cu IBA 3 mg/l timp de 7 zile și transplantul ulterior pe un mediu fără hormoni. Efectuarea unei replantări intermediare a plantelor a făcut posibilă creșterea randamentului plantelor înrădăcinate - comparativ cu plantarea staționară pe mediu cu IBA 3 mg/l cu 25 % și față de IBA 1 mg/l cu 15 %. La concentrația IBA de 4 - 5 mg/l nu s-a realizat o creștere a formării rădăcinilor.

Tabelul 3.8. Înădăcinarea portaltoaielor *in vitro* în funcție de concentrația de săruri minerale și metoda saturării cu auxina

Mediul nutritiv: Factorul A		Portaltoi înrădăcinați, % Factorul B				Media factorilor A DL0,05=5,42
componenta minerală	auxine, mg/l	MM 106	54 - 118	Pyriam	Sydo	
MS 1/2 (M)	IBA-0.5mg/l	70	80	45	30	56,25
MS 1/2	IBA-1 mg/l	55	60	50	50	53,75
MS 1/2	NAA-1 mg/l	40	50	35	25	37,50
MS 1/2	IBA-3 mg/l	75	75	60	40	62,50
MS 1/2	NAA-3 mg/l	55	50	40	30	43,75
Media factorilor B DL 0,05 = 4,85		59	63	46	35	-
DL 0,05 = 10,8						
Mediul nutritiv: Factorul A		Portaltoi înrădăcinați, % Factorul B				Media factorilor A DL0,05=6,06
componenta minerală	auxine, mg/l	MM 106	54 - 118	Pyriam	Sydo	
MS 1/2 (M)*	IBA-3 mg/l	61	65	55	65	61,50
MS 1/4 *	IBA-3 mg/l	55	65	40	55	53,70
MS 1/8 *	IBA-3 mg/l	45	45	35	25	37,50
MS 1/2 *	IBA-4 mg/l	50	60	45	30	46,25
MS 1/2 *	IBA-5 mg/l	45	50	30	10	33,75
Media factorilor B DL 0,05 = 5,42		51,2	57	41	37	-
DL 0,05 = 12,1						

*- replantarea pe mediu nutritiv fără hormoni după 7 zile

M - martor

Comparând dinamica procesului de rizogeneză în variantele studiate, s-a observat că rata de formare a sistemului radicular pe medii nutritive cu IBA de 3 mg/l a fost accelerată. Acest lucru a făcut posibilă scurtarea perioadei etapei tehnologice și începerea mai devreme a aclimatizării plantelor.

Adăugarea de cărbune activat în mediul nutritiv, ca absorbant al produselor de metabolism al plantelor și întunecarea zonei rădăcinilor, nu a avut un efect stimulator asupra rizogenezei.

A fost studiată posibilitatea înrădăcinării microlăstarilor multiplicați pe medii nutritive fără agar - agar. În aceste scheme experimentale s-a stabilit o creștere a activității rizogenezei chiar și pe medii nutritive fără hormoni unde sau înrădăcinat de

2,5 ori mai mulți microlăstari comparativ cu medii similare cu agar. Un mediu nutritiv lichid a făcut posibilă accelerarea semnificativă a înrădăcinării plantelor, precum și limitarea utilizării auxinei la concentrații scăzute. În rădăcinarea microlăstarilor pe un mediu cu IBA 0,5 mg/l a demonstrat avantaje față de alte opțiuni pentru mediile nutritive lichide.

Indicatorii de calitate a plantelor înrădăcinate *in vitro* au depins de compoziția mediului nutritiv în stadiul rizogenezei. S-a observat că pe mediile nutritive cu un conținut redus de auxină, lăstarii înrădăcinați erau mai înalți și aveau un sistem radicular mai dezvoltat (tab. 3.9, 3.10).

Tabelul 3.9. Microlăstarii Pyriam înrădăcinați *in vitro*

Indicatori de calitate	Concentrația IBA în mediul nutritiv, mg/l				Media
	0,5	1	3	3*	
Lăstari înrădăcinați, %	45,0	50,0	60,0	55,0	52,5
Înălțimea medie a lăstarilor după înrădăcinare, %	3,8	3,6	3,0	2,8	3,3
Devierea mediei generale de înălțime	+ 0,5	+ 0,3	- 0,3	- 0,5	-
Numărul mediu de rădăcini, buc	3,5	3,5	4,0	3,0	3,5
Devierea mediei generale pe numărul de rădăcini	-	-	+ 0,5	- 0,5	-
Lungimea medie a rădăcinii, cm.	2,5	2,8	3,0	2,6	2,7
Devierea mediei generale a lungimii rădăcinii	- 0,2	+ 0,1	+ 0,3	- 0,1	-

*- replantarea pe mediu nutritiv fără hormoni după 7 zile

Înălțimea medie a portaltoaielor de măr a atins 3,5 - 4,5 cm cu 4 - 5 rădăcini pentru un lăstar la MM106 și până la 6 - 8 rădăcini la 54-118. La portaltoaiile Pyriam și Sydo, înălțimea medie a lăstarilor înrădăcinați a ajuns la 3,8 - 4 cm. La fiecare plantă se formează până la 4 - 5 rădăcini (tab. 3.9, 3.10). Calitatea plantelor înrădăcinate a îndeplinit cerințele necesare pentru adaptarea cu succes a acestora la condiții nesterile.

Tabelul 3.10. Microlăstarii Sydo înrădăcinați *in vitro*

Indicatori de calitate	Concentrația IBA în mediul nutritiv, mg/l				Media
	0,5	1	3	3*	
Lăstari înrădăcinați, %	30,0	50,0	40,0	65,0	46,2
Înălțimea medie a lăstarilor după înrădăcinare, %	4,0	5,0	3,6	4,0	4,1
Devierea mediei generale de înălțime	- 0,1	+ 0,9	- 0,5	- 0,1	-
Numărul mediu de rădăcini, buc	4,0	5,0	3,5	3,0	3,8
Devierea mediei generale pe numărul de rădăcini	+ 0,2	+ 1,2	- 0,3	- 0,8	-
Lungimea medie a rădăcinii, cm.	4,0	4,4	4,2	3,9	4,1
Devierea mediei generale a lungimii rădăcinii	- 0,1	- 0,3	+ 0,1	- 0,2	-

*- replantarea pe mediu nutritiv fără hormoni după 7 zile

3.4. Adaptarea microplantelor la condiții *ex vitro*

Plantele sterile din eprubete sunt expuse la riscuri mari în timpul etapei de aclimatizare datorită capacității lor scăzute de a controla procesele de transpirație; restructurarea sistemului radicular la o metodă de nutriție autotrofă; pericolul crescut brusc de microflora bacteriană și fungică. Erorile de îngrijire și încălcările tehnologiei în această perioadă pot duce la consecințe ireversibile și pierderi semnificative de material vegetal multiplicat.

Pentru a crește rata de supraviețuire a microplantelor, au fost studiate 6 variante de substrat nutritiv. S-au obținut rezultate bune la utilizarea amestecurilor cu două straturi - partea inferioară principală este turba: perlită (1:1), iar stratul superior de 3 - 4 cm înălțime este perlită fină (tab. 3.11). Perlita este un material prietenos cu mediul neutru, care nu este supus descompunerii de către microorganisme, are condițiile necesare pentru adaptarea plantelor ușor vulnerabile. După restructurare fiziologică, în timpul procesului de creștere, rădăcinile plantelor aclimatizate ajung în substratul principal și pot folosi substanțele organice ale acestuia. În acest substrat, rata de supraviețuire a plantelor a fost maximă și s-a majorat la 85 %. La 6 săptămâni de la plantare, înălțimea medie a plantei a ajuns la aproape 10 cm [17].

În varianta în care a fost folosit ca strat superior perlita din fracția de 3-5 cm, rata de supraviețuire a fost mai slabă. Motivul a fost capacitatea slabă de reținere a perlitei de fracția mare care provoacă instabilitatea și deteriorarea microplantelor în procesul de îngrijire. Pe un substrat cu un singur strat de turbă: perlită (1:1), numărul de plante stabilite a fost de 74%, dar dinamica creșterii plantelor în această variantă a fost mai slabă. Cele mai scăzute rezultate au fost înregistrate pe substratul turbă : nisip. Înălțimea medie a microplantelor nu a depășit 2,4 cm.

Tabelul 3.11. Dezvoltarea plantelor de portaltui de măr MM106 pe diverse substraturi în timpul aclimatizării în condiții de seră

Substrat nutritiv		Număr de plante, buc	Starea plantelor la 1,5 luni de la plantare			
stratul superior 3 - 4 cm	stratul inferior		rata de supraviețuire		înălțimea plantei,	
			%	devierea de la medie în %	cm	devierea de la medie generală
Perlită fracția până la 1 cm	Turba:perlită (1:1)	80	85	+ 21,9	9,8	+ 4,1
Perlită fracția 1-3 cm	Turba:perlite (1:1)	80	73	+ 9,9	7,3	+ 1,6
Perlită fracția 3-5 cm	Turba:perlită (1:1)	80	54	- 9,1	4,6	- 1,1
-	Turba:perlită (1:1)	80	74	+ 10,9	6,6	+ 0,9
-	Turba:nisip (2:1)	80	59	- 4,1	3,7	- 2,0
Nisip	Turba:perlită (1:1)	80	34	- 29,1	2,4	- 3,3
Media după indicator		80	63,1	-	5,7	-
DL 0,05		-	17,3	-	1,24	-

Pentru a menține umiditatea ridicată, în primele săptămâni de aclimatizare, plantele au fost plasate sub rame de peliculă. Acest lucru a atenuat consecințele unei schimbări bruște a întreținerii și a ajutat la prevenirea scăderii umidității și aerisirii excesive a plantelor fine. După apariția frunzelor noi, umiditatea aerului a fost redusă treptat până când a fost restabilită complet la condițiile naturale.

Un factor necesar pentru o bună dezvoltare a plantelor este nutriția minerală suplimentară. În perioada de vegetație au fost studiate mai multe metode de introducere a nutrienților - prelucrarea radiculară și foliare efectuate cu îngrășământ mineral complex Polyfeed în diferite concentrații, cu azotat de amoniu și soluție de Murashige-Skoog.

S-a constatat că prelucrările radiculare cu Polyfeed 1% în interval de 15 - 20 de zile a fost optimă pentru creșterea și dezvoltarea activă a portaltoiului MM106 (fig. 3.4). Înălțimea medie a plantelor în această variantă a ajuns la 21 - 22 cm, iar cea maximă - 24 cm [17].

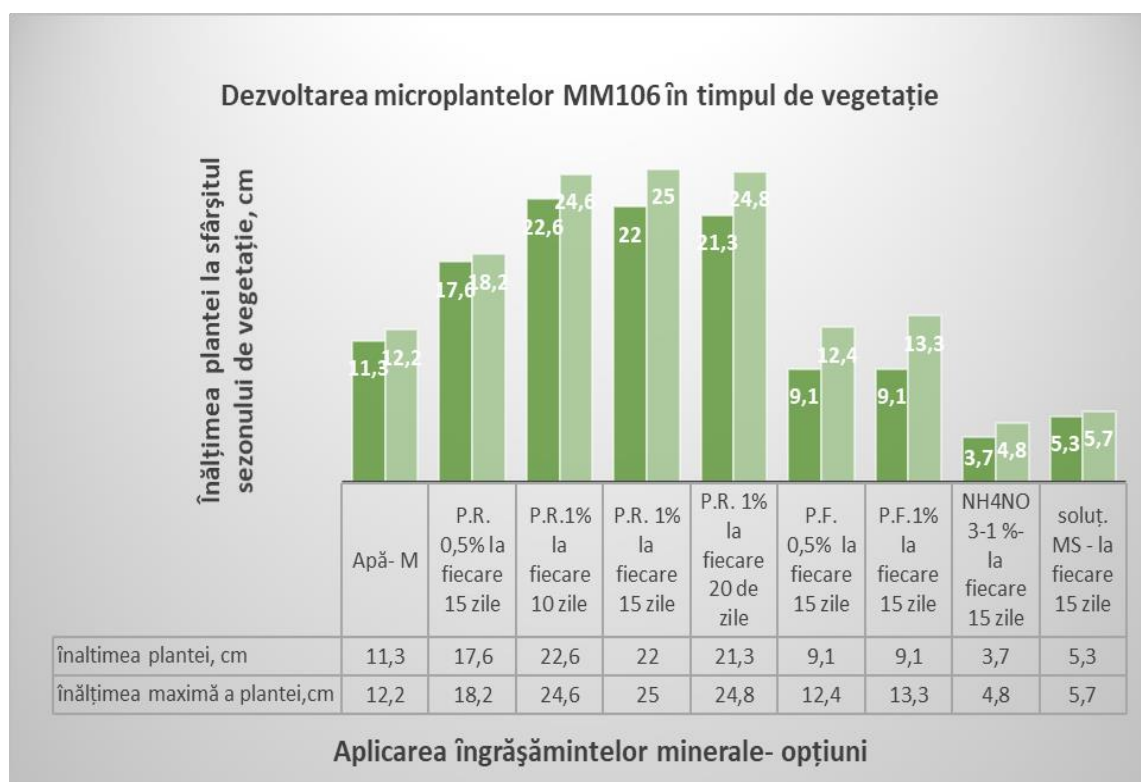


Figura 3.4. Dezvoltarea microplantelor MM106 în dependență de modul aplicării îngrășămintelor minerale

Note: M - martor; P.R.- prelucrări radiculare; P.F.-prelucrări foliare

Aplicarea îngrășămintelor la fiecare 10 zile a contribuit, de asemenea, la creșterea activă, dar rata de supraviețuire a plantelor în această variantă a fost mai mică și a scăzut la aproximativ 54 %. Creșterea intervalului de timp dintre aplicarea îngrășămintelor minerale a ridicat rata de supraviețuire a microlăstarilor la 70 %. Efectuarea numai prelucrări foliare cu Polyfeed, sau prelucrări radiculare cu azotat de amoniu și soluție de Murashige-Skoog nu a oferit plantelor condițiile necesare pentru dezvoltare durabilă.

S-a stabilit că succesul etapei de adaptare depinde direct de metoda de înrădăcinare a plantelor în cultura *in vitro* și nivelul de dezvoltarea a microlăstarilor. În varianta unde procesul de înrădăcinare *in vitro* a fost însoțit de un rezultat pozitiv a stimulării și creșterea activă a rădăcinilor, plantele se dezvoltă bine și la ele se formează un sistem radicular calitativ (fig. 3.5). Aceasta în continuare le-a oferit capacități de adaptare ridicate și creșterea numărului de plante prinse.

În procesul de elaborare a tehnologiei de multiplicare clonală au fost identificate scheme optime de înrădăcinare a portaltoilor studiați. Anume folosind aceste scheme sa dovedit realizarea adaptării plantelor a portaltoaielor de măr MM106 la nivelul de 72 %; portaltoiului 54-118 - 81 %; portaltoaielor Sydo și Pyriam - în limita de 69 - 58%. (tab. 3.12).

Tabelul.3.12. Rata de supraviețuire a microplantelor în stadiul de aclimatizare

Portaltoiul	Concentrația IBA în mediul nutritiv pentru înrădăcinare, mg/l	Lăstari, înrădăcinați <i>in vitro</i> , %	Rata de supraviețuire a microplantelor în timpul aclimatizării <i>ex vitro</i> , %
MM 106	0,5	73	61
	1,0	42	41
	3,0	67	72
	3,0*	62	45
54-118	0,5	80	81
	1,0	60	75
	3,0	75	53
	3,0*	65	77
Pyriam	0,5	45	44
	1,0	50	50
	3,0	60	58
	3,0*	55	45
Sydo	0,5	30	50
	1,0	50	60
	3,0	40	62
	3,0*	65	69

*- replantarea pe mediu nutritiv fără hormoni după 7 zile



Figura 3.5. Portaltoiul de măr MM106 adaptat în seră

La adaptarea portaltoaielor vegetativi, ne-am confruntat cu faptul că unele dintre plante au fost frânate în creștere și trebuiau să fie cultivate suplimentar în al doilea an. Acest fapt este provocat de absența unei perioade de repaus la plantele multiplicare.

Creșterea s-a desfășurat într-o seră, oferind îngrijirea și protecția necesară plantelor. Ca urmare, până la sfârșitul sezonului de vegetație plantele au atins o înălțime de 52 - 53 cm și erau valabile pentru transferare în plantația - mamă.

4. EFICIENȚA ECONOMICĂ A PLANTAȚIEI MAMĂ DE PORTALTOI CLONAL MM106

Includerea tehnologiei de propagare microclonală a portaltoilor de măr și păr în sistemul de producere a materialului săditor devirozat poate crește semnificativ profitabilitatea pepinierelor și, în consecință, a întregii ramuri pomicole.

S-a calculat eficiența economică a exploatării plantației- mamă a portaltoiului de măr MM106, plantată cu material de înaltă calitate înmulțit în cultură *in vitro* (tab. 4.1).

Tabelul 4.1. Eficiența economică a plantației mamă a portaltoiului clonal de măr MM106

Vârsta plantației mama:	Indicatori:	Plantația mamă creată de plante înmulțită după metoda tradițională	Plantația mamă creată de plante după cultura <i>in vitro</i>
1 AN	Portaltoi plantat, buc.	1000	1000
	Costul inițial portaltoi, lei/mii buc.	2000	12 000
	Costul de îngrijire, lei/mii buc.	600	600
	Valoarea netă, lei/mii buc.	2600	12 600
2 ANI	Marcote obținute, buc./mii tufe	2000	3000
	Costul de îngrijire, lei	1500	2850
	Costul de îngrijire pentru 1 - 2 ani de exploatare, lei	4100	15450
	Prețul de vânzare, lei/mii bucăți	2000	7 000
	Venituri, lei	4000	21 000
	Profit, lei	0	5550
	Nivel de profitabilitate, %	0	36
3 ANI	Marcote obținute, buc./mii de tufe	3000	5000
	Costul de îngrijire, lei	2250	4350
	Prețul de vânzare, lei/mii bucăți	2000	7 000
	Venituri, lei	6000	35 000
	Profit, lei	3750	30650
	Nivel de profitabilitate, %	166	704
4 ANI	Marcote obținute, buc./mii tufe	4000	6000
	Costul de îngrijire, lei	3000	5100
	Prețul de vânzare, lei/mii bucăți	2000	7000
	Venituri, lei	8000	42000
	Profit, lei	5000	36900
	Nivel de profitabilitate, %	166	723

La alcătuirea tabelului sau luat ca bază observațiile și datele noastre asupra plantației mamă creată în mod tradițional și plantația mamă de categoria biologică Baza și suplimentar datele din baza hărților tehnologice existente pentru întreținerea

plantațiilor - mamă pomicole. Calculul sa efectuat pentru o mie de plante. În cheltuielile pentru întreținerea plantației - mamă au fost incluse costul operațiunilor agrotehnice de bază, forței de muncă și cheltuielile asociate.

În plantația - mamă înființată cu plantele din categoria Bază, costurile au crescut începând cu al doilea an de funcționare, inclusiv costul testării virusologice anuale și costul îndepărtării butașilor. Indiferent de aceasta deja în al doilea an după plantare, se observă creșterea eficacității plantației mamă de material devirozat cu creșterea rentabilității cu 36 %. În al treilea și al patrulea an de exploatare, eficiența plantației mamă de categoria biologică Bază este de peste trei ori mai mare decât cea a plantației mamă obișnuit.

Cercetările au demonstrat că cheltuielile mari de producere pot fi rapid recuperate prin productivitatea majorată a plantațiilor mamă, și de asemeni prin calitatea înaltă a marcotelor, care ulterior se reflectă în costul materialului de această categorie.

Pe baza rezultatelor obținute, putem concluziona că înființarea unei plantații mamă cu plante devirozate înmulțite *in vitro* va crește profitabilitatea plantațiilor mamă de 2 - 3 ori. Astfel de plantații - mamă vor face posibilă, fără riscul de pierderi, realizarea unui produs competitiv, de înaltă calitate, care respectă normele sistemului internațional de certificare a materialului săditor. Acest material cu potențial biologic ridicat va avea un efect pozitiv asupra calității materialului săditor și asupra productivității plantărilor viitoare.

CONCLUZII

În rezultatul cercetărilor, pentru prima dată în Republica Moldova, a fost elaborată o tehnologie de micromultiplicare a portaltoaielor de perspectivă pentru păr - Sydo și Pyriam, măr - 54 - 118 și MM106, care permite obținerea materialului săditor cu potențial biologic sporit într-un timp limitat.

1. La etapa de introducere în cultura *in vitro* s-au stabilit metode eficiente pentru obținerea unei culturi aseptice - utilizarea hipocloritei de calciu 6 %, perhidroli 15 %, Tabidez 56 - 0,5 % face posibilă obținerea de până la 70 - 80 % de material steril. Efectul inhibitor al polifenolilor a fost neutralizat prin utilizarea soluțiilor de PVP 5% și PEG 5% m.m. 30000 și 20000. S-a selectat compoziția optimă a mediului nutritiv pentru dezvoltarea explantelor primare: pentru portaltoaiele MM106 și Pyriam se recomandă utilizarea unui mediu pe bază de minerale conform MS cu adaos de BAP 1 mg/l, IBA 0,5 mg/l. , iar pentru portaltoiurile 54 - 118 și Sydo - mediu nutritiv modificat conform MS cu concentrația de macrosăruri redusă la jumătate și adăugarea de BAP 1 mg/l.

2. Pentru menținerea proliferării active a microplantelor de portaltoi MM106 și Pyriam, se recomandă cultivarea pe mediu MS în concentrație maximă; pentru portaltoiul Sydo - MS cu conținut de două ori mai mic de azot; iar pentru portaltoiul 54-118 - mediu WPM sau MS cu $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3 . Raportul optim al stimulatoarelor de creștere (BAP: IBA) în stadiul de proliferare este de 2 : 0,5 mg/l pentru MM106; 0,5 : 0 mg/l pentru 54-118; 1 : 0 mg/l pentru Pyriam. Pentru portaltoiul Sydo – BAP : NAA – 1 : 0,5 mg/l. Aceste condiții fac posibilă obținerea de la 3,3 până la 5 lăstari

suplimentari. Pentru a crește numărul de microplante viabile pentru înrădăcinarea ulterioară, este necesar să se adauge 0,5 - 1 mg/l GA₃ în mediul nutritiv.

3. Condiția pentru înrădăcinarea cu succes a microlăstarilor este o scădere a concentrației de săruri minerale în baza mediului MS și utilizarea stimulatorilor auxinei. Pentru MM106 și Pyriam, concentrația optimă de IBA este de 3 mg/l; pentru 54-118 IBA este de 0,5 mg/l, iar portaltoiul Sydo se înrădăcinează mai bine cu saturație pe termen scurt pe un mediu cu IBA 3 mg/l și plantat pe o compoziție MS fără hormoni. A fost demonstrată posibilitatea unei rizogenezе eficiente la plante pe medii nutritive fără agar - agar.

4. La etapă acclimatizării la condiții nesterile, microplantele bine se dezvoltă pe un substrat nutritiv cu două straturi, unde stratul superior este format din perlită fină, precum și pe un substrat de turbă: perlită 1 : 1. Optimizarea metodelor de adaptare a făcut posibilă obținerea a până la 72 - 81% plante de portaltoi de măr, 58 - 69 % portaltoi de pere. Aplicarea radiculară a îngrășământului mineral Polyfeed 1% la intervale de 15 - 20 de zile contribuie la starea bună a plantelor în perioada de vegetație.

5. Au fost efectuate calcule ale eficienței economice a exploatării plantației mamă a portaltoiului de măr MM106, creată cu material după cultura *in vitro*. S-a demonstrat rambursarea economică accelerată a plantației mama de categorie Bază, al cărei nivel de profitabilitate este de 3 - 4 ori mai mare decât rentabilitatea unei plantații mama obișnuite, ceea ce se explică prin majorarea numărului de marcote obținute și prețul de vânzare mai mare.

6. Utilizarea tehnologiei elaborate de micromultiplicare face posibilă obținerea a 3000 de plante de portaltoi de măr adaptate sau 2000 de plante de portaltoi de pere adaptate din 10 explante sterile în decurs de 18 luni. Aceasta prezintă un randament de 10 ori mai mare decât posibilitățile de reproducere a portaltoiurilor în condiții obișnuite.

RECOMANDĂRI

1. Se recomandă implementarea tehnologiei elaborate de micromultiplicare clonală a portaltoaielor de specii sămânțoase omologate și de perspectivă și utilizarea ca metodă pentru producerea accelerată a materialului săditor de înaltă calitate pentru măr și păr.

2. Înființarea unei plantații mamă cu plante devirozate înmulțite *in vitro* va permite producerea în Republica Moldova a materialului săditor ce va corespunde standardelor internaționale de certificare a materialului săditor și va accelera tranziția ramurii pepinieristice din țară la o bază devirozată.

3. Reproducerea și menținerea biotipurilor studiate în cultură *in vitro* va oferi posibilitatea creării unei bănci de rezervă de plante - sursă, eliminând riscurile reinfecției acestora, ceea ce garantează conservarea unei biodiversități a portaltoaielor de specii sămânțoase liberi de viroze. Acest lucru va face posibilă începerea reproducerii materialului în orice moment al anului, ocolind etapa de introducere în cultura *in vitro*.

4. Pe baza rezultatelor obținute, a fost elaborată o metodă de multiplicare microclonală pentru fiecare biotip studiat, care poate fi utilizat în viitor ca bază pentru cultivarea portaltoaielor de păr și măr.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. BABUC, V. Pomicultura. Chișinău: Tipografia Centrală, 2012, 664 p. ISBN 978-9975-53-067-5.
2. BALAN, V., ȘARBAN, V. Starea pomiculturii în Republica Moldova în ultimele două decenii. In: Horticultură, Viticultură și vinificație, Silvicultură și grădini publice, Protecția plantelor: Simp.Șt. Intern. Chișinău, 2018. Vol. 47. pp. 13 - 18. ISBN 978-9975-64-296-5.
3. CALAȘEAN, I. et al. Pepinierit Pomicol doar în baza Materialului devirozat. În: Pomicultura, Viticultură și Vinificația, Chișinău, 2012. nr 2. pp. 9 - 10. ISSN 1857-3142.
4. DIMITROVA, N., NACHEVA, L. An optimized micropropagation protocol by ex vitro rooting of pear rootstock OHF333 (*Pyrus communis* L.) Acta Agrobotanica. 2021. V.74. art.744. DOI 10.5586/aa.744.
5. DOMBRANSKI, J. Micropropagation of apple - A review. Biotechnology advances. Biotechnol Adv. 2010 Jul-Aug; 28(4):462-88. doi:10.1016/j.biotechadv.2010.02.008.
6. DUMANOGLU, H. and GULSEN, Y. In vitro rooting of quince A. Acta Hortic. 367, pp.360-363. DOI: 10.17660/ActaHortic.1994.367.54
7. EPPO certification scheme for fruit trees, including almond. In: Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. 06/2008, vol. 27(4), pp. 571 – 579.
8. **GENDOV, N.**, CHERNETS, A., KOVALENKO, G., Conservation of biodiversity of pome rootstocks in the Republic of Moldova, “Genetics, Physiology and Plant Breeding”, International Scientific Conference. October 7 – 8. 2024. pp. 355 – 358. USM, IGPPP, Scientific Association of Geneticists and Breeders of the Republic of Moldova. ISBN 978- 9975-62-766-5. (PDF).
9. Hotărîrea Guvernului nr. 415 din 21.06.2013. Pentru aprobarea Normei privind producerea, controlul, certificarea și comercializarea materialului de înmulțire și de plantare fructifer. În: Monitorul Oficial al Republicii Moldova. 28.06.2013. nr. 136-139.
10. PRODANIUC, L., CALAȘEAN, I., **GHEODOV, N.**, et al. Majorarea sortimentului de clone devirozate a speciilor pomicole. 2020. pp. 266-279. Realizări științifice în Horticultură, oenologie și tehnologii alimentare. Chișinău, ISBN 978-9975-56-808-1.
11. RAPCEA, M., DONICA, A., Starea actuală și evoluția dezvoltării pomiculturii în perioada de tranziție de economia de piață. Horticultură, viticultură, silvicultură și protecția plantelor. Vol. 16. Simpozionul "Agricultura modernă - realizări și perspective". Chisinau. 2008 pp.151-156, ISBN: 978-9975-64-127-2.
12. SIMARD, M J., MICHELESI, C., MASSERON, A. Pear rootstock breeding in France. ISHS Acta Horticulturae 658: I International Symposium on Rootstocks for Deciduous Fruit Tree Species. ISHS 2004, pp. 535-540.
13. ȘÎRBU, N. Organizarea bazei tehnico-materiale a pepinierilor pomicole. In: Realizări și perspective în horticultură, viticultură, vinificație și silvicultură”. Chișinău. 2007, Vol. 15 (1). pp. 138 - 141. ISBN 978-9975-946-31-5.
14. ZEMCIC, E., RAPCEA, M., **COLIBABA, N.** et al. Producerea materialului săditor pomicol cu un potențial biologic sporit. Cercetări în horticultura/Institut de Cercetări pentru Pomicultura: Vol.3. Chisinau. 2004, pp.181-185. ISBN 9975-62-111-2.
15. БУТЕНКО, Р. Биология клеток высших растений in vitro и биотехнология на их основе. Учеб. пособ. МГУ им. М.В. Ломоносова М: ФБК ПРЕСС. 1999. 159 с. ISBN 5-89240-059-X
16. **КОЛИБАБА, Н.** Культивирование перспективного подвоя для груши и айвы на этапе введения в культуру in vitro. Cercetări în horticultura/ Institut de Cercetări pentru Pomicultura: Vol.5. Chisinau. 2006. pp.243 - 246, ISBN 978-9975-62-138-0.
17. **КОЛИБАБА, Н.**, ЧЕРНЕЦ, А. Микроразмножение безвирусного подвоя яблони MM 106. Cercetări în horticultura/Institut de Cercetări pentru Pomicultura: Vol.3. pp. 191 - 197, Chisinau. 2004, ISBN 9975-62-111-2.
18. **КОЛИБАБА, Н.** Особенности введения в культуру invitro клоновых подвоев яблони. Agricultura Moldovei. № 3. 2009, с. 15-17, ISSN 0582 5229.
19. **КОЛИБАБА, Н.** Размножение клонового подвоя Sydo на искусственных питательных средах. Agricultura Moldovei. № 4 – 5. 2009, с. 16 – 18. ISSN 0582 5229.

20. КОРБИНЕЦ, П. Микроклональное размножение перспективных клоновых подвоев груши. Плодоводство. Т.29. 2017, с.54 - 58. ISSN 0134-9759. (Print)
21. МАТУШКИНА, О. и др. Технология клонального микроразмножения яблони и груши на основе использования новых питательных сред. Сборник научных трудов ГНБС. Т. 144. 2017. ч. 2. с.77 - 81. ISSN 0201-7997.
22. МАТУШКИНА, О. Оптимизация процессов регенерации при размножении клоновых подвоев и сортов яблони и груши in vitro. автореф. диссерт. на соиск. уч. ст. кандидат. с/х наук. Мичуринск. 2008, с. 23.
23. ПРОНИНА, И. Клональное микроразмножение в системе производства оздоровленного посадочного материала клоновых подвоев груши. Достижения науки и техники АПК. 2014 (5). с. 27 - 29. ISSN: 0235-2451.
24. ПРОДАНЮК, Л. Вирус ямчатости древесины яблони в системе сертификации посадочного материала плодовых культур. Кишинёв. 2021, стр. 144. ISBN 978-9975-56-886-9.
25. РАПЧА, М., ДАДУ, К., ДОНИКЭ, И., КАЛАЩЯН, Ю. и др. Система сертификации посадочного материала плодовых культур в Молдове и пути перевода питомниководства Республики на безвирусную основу. Пром. произв-во оздоровл. посад. матер. плодовых, ягодных и цветочно-декор-х культур. Москва. 2001, с. 36 -40.
26. САМУСЬ, В. и др. Методика микроразмножения подвоев яблони in vitro. Методическое обеспечение устойчивого развития современного плодоводства: материалы междунар. науч. конф., Самохваловичи. 2006. Т. 18, ч. 2. с. 147 - 157.
27. СЕМЕНАС, С., ЗМУШКО, А., КУХАРЧИК Н. Технология производства оздоровленных клоновых подвоев яблони. Плодоводство. Т. 26. 2014, с. 64 -78. ISSN 0134-9759. (Print)
28. ТАНКЕВИЧ, В., СОТНИК, А. Изучение клоновых подвоев для груши в отводочном маточнике в Крыму. Агрономия. 23 (186). 2020, с. 5 - 13. ISSN: 2413-1946.
29. ТАШМАТОВА, Л. Укоренение и адаптация груши в условиях in vitro. Современное садоводство, электронный журнал. 1. 2013, ISSN: 2312-6701. (online)
30. ТУРОВСКАЯ, Н. Особенности регенерации апикальной меристемы клоновых подвоев яблони. Микроразмножение и оздоровление растений в промышленном плодоводстве и цветоводстве: сб. науч. тр. Мичуринск. 1989. с. 13 - 17.
31. ЧЕРНЕЦ, А. Получение и микроклональное размножение безвирусных сортов и подвоев косточковых пород в условиях Молдовы. автореф. дис. на соиск. уч. ст. д-ра биол.наук. Кишинёв. 1993. с. 16.

LISTA PUBLICAȚIILOR AUTORULUI LA TEMA TEZEI

Articole în reviste din Registrul Național al revistelor de profil, categoria C

1. КОЛИБАБА, Н. Особенности введения в культуру in vitro клоновых подвоев яблони. Agricultura Moldovei № 3. 2009, с. 15 - 17. ISSN 0582 5229.
<https://ru.scribd.com/document/391174265/BNM-3-2009>
2. КОЛИБАБА, Н. Размножение клонового подвоя Sydo на искусственных питательных средах. Agricultura Moldovei. № 4 - 5. 2009. с. 16 - 18. ISSN 0582 5229.
<https://ru.scribd.com/document/391174268/BNM-5-2009>
3. ЧЕРНЕЦ, А., ГЕНДОВ, Н. и др. Динамика производства и реализации черенков семечковых пород с безвирусного маточно- черенкового сада категории «База». Pomicultura, viticultura si vinificatia. 2016. № 2 (62). pp.6-9. ISSN 1857-3142.
https://ibn.idsi.md/sites/default/files/j_nr_file/Pomicultura-ViticulturaVinificatia-nr-2_2016.pdf
4. КОВАЛЕНКО, Г., ГЕНДОВ Н. Сохранение генофонда клоновых подвоев косточковых пород методами биотехнологии. Pomicultura, viticultura, vinificatia. 2016. № 3 (63). с 10 - 11 ISSN 1857-3142. https://ibn.idsi.md/sites/default/files/j_nr_file/Pomicultura-ViticulturaVinificatia-nr-3_2016.pdf

Articole în lucrările conferințelor științifice internaționale (Republica Moldova)

5. **КОЛИБАБА, Н.** Предварительные результаты клонального микроразмножения подвоев семечковых культур на этапе пролиферации. În: *Lucrări științifice. UASM. Chișinău. 2005. Vol 14. (Horticultura, viticultura, silvicultura, protecția plantelor).* pp. 58 - 61. ISBN 9975-64-061-3.

6. **КОЛИБАБА, Н., ЧЕРНЕЦ, А.** Зависимость между содержанием ауксина в питательной среде и процентом приживаемости микрорастений подвоя ММ 106 в нестерильных условиях. În: *Lucrări științifice. UASM. Chișinău. 2007. vol.15 (1). (Horticultură, viticultură, vinificație și silvicultură).* pp. 132 – 134. ISBN 978-9975-946-31-5.

https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/106879

7. **КОЛИБАБА, Н.** Оптимизация этапов клонального размножения подвоя персика GF 677: În :*Lucrări științifice UASM. Chișinău. 2010. Vol 24 (1). (Horticultura, viticultura și vinificație, silvicultura și grădini publice, protecția plantelor).* стр.43-46. ISBN 978-9975-64-191-3.

https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/91446

8. **GENDOV, N., CHERNETS, A. etc.** Preliminary results of micropropagation of vegetative rootstock for plum and apricot Wavit, În: *Lucrări științifice UTM “Modern October 5-6. 2023. pp. 48. ISBN 978-9975-64-360-3. (PDF).* https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/192876

9. **GENDOV, N., CHERNETS, A., KOVALENKO, G.,** Conservation of biodiversity of pome rootstocks in the Republic of Moldova, “Genetics, Physiology and Plant Breeding”, International Scientific Conference. October 7 – 8. 2024. pp. 355 – 358. USM, IGPPP, Scientific Association of Geneticists and Breeders of the Republic of Moldova. ISBN 978- 9975-62-766-5. (PDF).

https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/355-358_12.pdf

Articole în alte culegeri de lucrări științifice editate în Republica Moldova

10. **КОЛИБАБА, Н., ЧЕРНЕЦ, А.** Микроразмножение безвирусного подвоя яблони ММ 106. *Cercetări în Pomicultura. Institut de Cercetări pentru Pomicultura: Vol.3. Chisinau. 2004. pp. 191 - 196. ISBN 9975-62-111-2.*

11. **ЧЕРНЕЦ, А., КОЛИБАБА, Н.** Дорацивание вегетативных подвоев яблони, полученных из культуры ткани. *Cercetări în Pomicultura. Institut de Cercetări pentru Pomicultura: Vol.4, p. 227-232, Chisinau, 2005. ISBN 9975-62-146-5*

12. **PRODANIUC, L., GHENDOV, N. et.al.** Majorarea sortimentului de clone devirozate a speciilor pomicele. În: *Lucrări științifice UASM. Chișinău. 2020. pp. 266 – 279. Realizări științifice în horticultură, oenologie și tehnologii alimentare. ISBN 978-9975-56-808-1.*

Articole în alte culegeri de lucrări științifice editate peste hotare

13. **GENDOV N., N. KALASHAN, I. и др.** Розмноження вегетативної підщепи Кримськ 6 в Республіці Молдова. Матеріали XII міжнародної наукової конференції «Селекційно - генетична наука і освіта». Україна. Умань. 2023. с 47-52.

АННОТАЦИЯ

Гендов Наталья, “Разработка технологического процесса микроразмножения районированных и перспективных в Республике Молдова клоновых подвоев семечковых культур”, диссертация на соискание учёной степени доктора сельскохозяйственных наук, Кишинэу, 2025.

Диссертация изложена на 155 страницах печатного текста и включает введение, 4 главы, выводы и рекомендации, 265 библиографических источника, 11 рисунков, 52 таблицы, 6 приложений. Результаты опубликованы в 13 научных работах.

Ключевые слова: питомниководство, безвирусный материал, подвой, яблоня, груша, *in vitro*, питательные среды, микроразмножение, укоренение, акклиматизация.

Область исследований: 411.06 - Плодоводство.

Цель работы: разработать технологию микроклонального размножения районированных и перспективных подвоев семечковых культур для внедрения и использования её в качестве инструмента для ускоренного размножения высококачественного посадочного материала яблони и груши.

Задачи исследований: разработать приёмы получения асептической культуры и условия регенерации стерильных эксплантов; оптимизировать состав питательной среды для инициации эксплантов в культуру *in vitro* и микроклонального размножения подвоев; подобрать химический состав питательной среды, тип ауксина, его оптимальную концентрацию и способ воздействия на микропогреб, обеспечивающие высокий уровень ризогенеза на этапе укоренения изучаемых подвоев; изучить альтернативные методы стимуляции процессов пролиферации и ризогенеза микрорастений; разработать эффективные приёмы адаптации пробирочных растений к нестерильным условиям.

Новизна исследований: впервые в Республике Молдова разработана технология микроклонального размножения перспективных подвоев для груши Sydo и Pyriam (ОН-11), яблони- 54-118, а также районированного подвоя яблони ММ106.

Решенная научная проблема: были преодолены основные проблемы на каждом этапе размножения *in vitro* - получение стерильной культуры с использованием экологически безопасных препаратов, размножение однородного, генетически стабильного материала; повышение эффективности процессов пролиферации и ризогенеза с помощью альтернативных методов, усовершенствование методов адаптации растений *ex vitro*.

Теоретическое значение работы: разработанная нами технология микроклонального размножения может быть использована для руководства при клонировании подвоев ММ106, 54-118, Sydo и Pyriam. Полученные результаты дополняют теоретические данные, накопленные в области микроразмножения плодовых подвоев.

Прикладное значение: внедрение разработанной технологии в процесс производства посадочного материала будет способствовать ускоренному размножению здоровых, генетически идентичных клонов изучаемых биотипов, обладающих повышенным биологическим потенциалом; ускорит переход питомниководства Молдовы к производству сертифицированного посадочного материала; откроет новые перспективы для возделывания таких важных культур как груша и яблоня.

Внедрение научных результатов: с помощью разработанной технологии микроклонального размножения подвоев семечковых культур был размножен районированный в Молдове подвой яблони ММ106, который был высажен в безвирусный маточник категории База Научно - Практического Института Садоводства Виноградарства и Пищевых Технологий, а также передан в питомниководческие хозяйства GT “Melnic Ioana Feodor” и GT “Cebotari Feodor Mihail” (с. Средние Жоры, Оргеевского района). Подвой 54 - 118, Sydo, Pyriam размноженные нами *in vitro*, были переданы в питомник экспериментальной станции Кодру бывшего Научно - Исследовательского Института Плодоводства для расширенного изучения новых сортоподвойных комбинаций.

ADNOTARE

Gendov Natalia, „Elaborarea procesului tehnologic de micromultiplicare a clonelor de portaltoaie a speciilor sămânțoase omologate și de perspectivă în Republica Moldova” teza pentru titlul de doctor în științe agricole, Chișinău, 2025.

Teza este expusă pe 155 pagini de text de baza, include introducerea, 4 capitole, concluzii generale și recomandări practice, 52 tabele, 11 figuri, 6 anexe, 265 surse bibliografice. Rezultatele au fost publicate în 13 lucrări științifice.

Cuvinte cheie: ramură pepinieristică, material devirozat, portaltoi clonal, măr, păr, *in vitro*, medii nutritive, multiplicare microclonală, înrădăcinare, aclimatizare.

Domeniul de cercetare: 411.06 - Pomicultură.

Scopul lucrării: constă în elaborarea tehnologiei de micromultiplicare clonală a portaltoaielor de specii sămânțoase omologate și de perspectivă pentru implementare și utilizare ca metodă pentru producerea accelerată a materialului săditor de înaltă calitate pentru măr și păr.

Obiectivele cercetării: elaborarea procedeeleor de sterilizare a vârfurilor apicale a portaltoaielor culturilor sămânțoase și condițiilor de regenerare a explanților sterili; optimizarea mediului nutritiv pentru inițierea în cultura *in vitro* și multiplicării microclonale a portaltoaielor; selectarea componentei chimice a mediului nutritiv, tipului de auxină, concentrației optime și modul de interacțiune asupra microlăstarului, care asigură un nivel de rizogeneză înalt la etapă înrădăcinării portaltoaielor cercetate; studierea metodelor alternative de stimulare proceselor de proliferare și rizogeneză a plantelor; elaborarea procedeeleor efective de adaptare a plantelor de eprubetă la condițiile nesterile de seră.

Noutatea cercetării: pentru prima dată în Republica Moldova a fost elaborată și prezentată tehnologia de înmulțire microclonală a portaltoaielor de perspectivă pentru păr Sydo și Pyriam și măr 54-118, precum și pentru portaltoi omologat de măr MM106.

Problema științifică rezolvată: au fost depășite principalele dificultăți la fiecare etapă de multiplicare *in vitro* - obținerea unei culturi sterile cu posibilitatea de a utiliza preparate mai puțin poluante; obținerea de material omogen stabil genetic; creșterea eficienței proceselor de proliferare și rizogeneză folosind metode alternative; modernizarea metodelor de adaptare a microplantelor la condiții nesterile.

Semnificația teoretică a lucrării: tehnologia de micropropagare elaborată poate fi utilizată pentru a ghida clonarea *in vitro* a portaltoiurilor MM106, 54-118, Sydo și Pyriam. Rezultatele obținute completează datele teoretice acumulate în domeniul micropropagării portaltoaielor pomicole.

Semnificația aplicativă: implementarea tehnologiei elaborate în ciclul de producere materialului săditor va contribui la multiplicarea accelerată a materialului de portaltoi sănătos, identic genetic, cu potențial biologic sporit; va accelera tranziția pepinierelor din țară către producerea de material săditor certificat; va deschide noi perspective pentru cultivarea unor specii atât de importante precum mărul și părul.

Implementarea rezultatelor științifice: cu ajutorul tehnologiei elaborate de multiplicare microclonală a portaltoaielor sămânțoase a fost înmulțit portaltoiul de măr MM106, omologat în Moldova, care a fost plantat într-o plantație-mamă devirozată de categoria biologică BAZĂ în Institutului Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare și de asemeni transferat în pepinierele GT „Melnic Ioana Feodor” și GT „Cebotari Feodor Mihail” (s. Jora de Mijloc, raionul Orhei). Portaltoiurile 54-118, Sydo, Pyriam, înmulțite *in vitro*, au fost transferate în pepiniera stației experimentale Codru a fostului Institutul Științific de Pomicultura pentru un studiu extins al noilor combinații soi - portaltoi.

ANNOTATION

Gendov Natalia, "Elaboration of a technological process for micropropagation of zoned and promising clonal rootstocks of pome crops in Republic of Moldova." dissertation for the degree of Doctor of Agricultural Sciences, Chisinau, 2025

Structure of the dissertation: introduction, 4 chapters, conclusions and recommendations, on 155 pages of the main text, 265 bibliographic sources, 11 figures, 52 tables. The results were published in 13 scientific papers.

Key words: nursery, virus free material, nutrient media, clonal rootstocks, apple, pear, microclonal propagation, *in vitro*, rooting, acclimatization, methods, pome species.

Area of research: 411.06 - Fruit Growing.

Purpose of the work: to develop a technology for microclonal propagation of zoned and promising rootstocks of pome crops for its implementation and use as a method for accelerated propagation of high-quality planting material for apple and pear trees.

The objectives of the research: to develop methods for obtaining aseptic culture and conditions for the regeneration of sterile explants. To optimize the composition of the nutrient medium for the initiation of explants and microclonal propagation of rootstocks. To select the chemical composition of the nutrient medium, the type of auxin, its optimal concentration and the method of influencing the microshoot, ensuring a high level of rhizogenesis at the rooting stage. To study alternative methods for increasing the efficiency of proliferation and rhizogenesis processes in microplants. To develop effective methods for adapting microplants to non-sterile conditions.

Originality of research: for the first time in Moldova, a technology for the microclonal propagation of rootstocks was developed and presented for protection for the pear rootstocks Sydo and Pyriam (OH-11), the apple rootstock 54-118, as well as the zoned apple rootstock MM106.

Resolved scientific problem: the main challenges at each stage of *in vitro* propagation were overcome - obtaining a sterile culture using environmentally safe preparations; reproduction of homogeneous, genetically stable material; increasing the efficiency of proliferation and rhizogenesis using alternative methods and improving the *ex vitro* adaptation stage of plants.

Theoretical significance: the developed microclonal propagation technology can be used as a guide for cloning the MM106, 54-118, Sydo and Pyriam rootstocks *in vitro*. The results obtained expand the theoretical data accumulated in the field of fruit rootstocks micropropagation.

Practical significance: the introduction of the developed technology into the production process of planting material will facilitate the accelerated reproduction of healthy, genetically identical clones of the studied biotypes with increased biological potential; it will accelerate the transition of Moldavian nurseries to the production of certified planting material and it will open up new prospects for the cultivation of such important crops as pears and apples.

Implementation of scientific results: the developed microclonal propagation technology made it possible to propagate the zoned in Moldova apple rootstock MM106, which was planted in a virus-free mother orchard of the "Base" category at the Scientific and Practical Institute of Horticulture, Viticulture, and Food Technologies. It was also transferred to the nursery farms GȚ "Melnic Ioana Feodor" and GȚ "Cebotari Feodor Mihail" (Orhei). The 54 - 118, Sydo, and Pyriam rootstocks propagated *in vitro* were transferred to the nursery of the Codru Experimental Station of the Scientific Research Institute of Fruit Growing for an expanded study of new variety - rootstock combinations.

GENDOV NATALIA

**ELABORAREA PROCESULUI TEHNOLOGIC DE MICROMULTIPlicARE
A CLONELOR DE PORTALTOAIE A SPECIILOR SĂMÂNȚOASE
OMOLOGATE ȘI DE PERSPECTIVĂ ÎN REPUBLICA MOLDOVA**

411.06 – POMICULTURĂ

Rezumatul tezei de doctor în științe agricole

Aprobat spre tipar: 8.05.2025

Formatul hârtiei: A4

Hârtie offset. Tipar digital

Tiraj: 50 ex.

Coli de tipar: 2,4

Comanda nr. 51

Tipografia PRINT-CARO
m. Chisinău, str. Columna, 170
printcaro@gmail.com
tel. 069124696