

**THE DEVELOPMENT AND IMPLEMENTATION OF THE *IN VITRO*
MULTIPLICATION TECHNOLOGY IN SOME PRODUCTIVE
VARIETIES OF BLACKBERRY (*RUBUS FRUTICOSUS*)**

**ELABORAREA ȘI IMPLEMENTAREA TEHNOLOGIEI DE
MULTIPLICARE *IN VITRO* A UNOR SOIURI DE MUR
(*RUBUS FRUTICOSUS*) PRODUCTIVE**

LOZINSCHII Mariana

Gradina Botanică Națională (Institut) "Alexandru Ciubotaru",

Laboratorul de Embriologie și Biotehnologie

<https://orcid.org/0009-0007-8175-6182>

Sectorul de pomușoare, în special cultura murului, este foarte atractivă, iar suprafețele cultivate în Republica Moldova sporesc în fiecare an. Multiplicarea plantelor prin microtehnici *in vitro* ar fi o soluție eficientă pentru pepinierele de arbuști fructiferi, deoarece ar asigura obținerea culturilor sănătoase într-o perioadă scurtă de timp.

Murul este un arbust cu fructe ce au calități nutriționale valoroase. Datorită conținutului sporit de nutrienți, fructul de mur este un produs înalt apreciat și frecvent solicitat, atât pe piața autohtonă, cât și pe cea mondială.

Pentru realizarea proiectului cercetările științifice au fost efectuate în Gradina Botanică Națională (Institut) "Alexandru Ciubotaru", Laboratorul de Embriologie și Biotehnologie, cu utilizarea metodelor de cercetare a plantelor în cultura *in vitro* și *ex vitro*. La micropropagarea soiurilor de mur în cultura *in vitro* au fost utilizate metode biotehnologice. Calcularea indicilor statistici s-a efectuat prin metoda după Mărușteri M. (2006), programul Statistic 7 și MS Excel.

În calitate de material biologic au servit soiurile speciei *Rubus fruticosus* L. (agsp.): 'Arapaho', 'Triple Crown', 'Loch Ness', 'Polar', 'Black Satin', 'Reuben', 'Chester', 'Thornfree', 'Smoothstem' și soiul 'Thornles Evergreen' care provine de la specia *R. laciniatus* Willd, având origine americană, soiul 'Polar' origine poloneză și 'Loch Ness' origine scoțiană.

Procedeele succesive de sterilizare a materialului biologic pentru inocularea *in vitro* sunt: meristemele apicale și laterale ale lăstarilor se mențin în soluție sterilizantă de 0,1% – 7 minute, fragmentele de lăstar (internodul) – 10 minute, fragmentele de limb foliar – 5 minute.

Inocularea. Explantele de diferite dimensiuni (5 mm pentru meristeme cu primordii și de 10 mm) fragmentele de explant au fost izolate din apexuri fiind respectate cerințele de păstrare a țesuturilor vii de 5-7 mm, au fost inoculate în condiții aseptice pe medii nutritive. Pasajele s-au realizat la intervale de 3-6 săptămâni în dependență de inocul și compoziția mediului nutritiv.

Pentru inițierea și dezvoltarea proceselor organogene ale plantei, în cultura *in vitro*, mai întâi, s-a efectuat selectarea și evidențierea cantității regulatorilor de creștere și a mediilor de cultură. Pentru dezvoltarea proceselor organogene a fost selectat mediul MS 100% modificat, care a fost suplinit cu regulatori de creștere (Tabelul 1). În acest scop au fost testate următoarele tipuri de medii nutritive: mediu pentru inițierea culturii, mediu pentru micropropagare și multiplicare, și mediul pentru inițierea rizogenezei. Procesele de dezvoltare *in vitro* au fost dirijate în special de regulatorii de creștere utilizați în mediu.

Tabelul 1. Mediu modificat pentru microclonarea, murului *in vitro* după MS

Nr. d/o	Componentul	Concentrația (mg/l)
1.	Mio-inositol	1,0
2.	Glicina	1,0
3.	Zaharoză	30000
4.	Agar	5000
5.	BAP	0,3; 0,5; 0,7
Valoarea pH		5,8

Cele mai optime rezultate pentru multiplicare s-au obținut pe mediul MS de bază cu regulatorul de creștere BAP în diferite concentrații. La plasarea pe mediile de cultură adiționate cu BAP, se mărește considerabil inducerea mugurilor laterali pe axul plantulei, ceea ce favorizează o lăstărire multiplă (Figura 1), care mai apoi servește drept sursă de material biologic pentru micropropagare și sporirea masei vegetative.

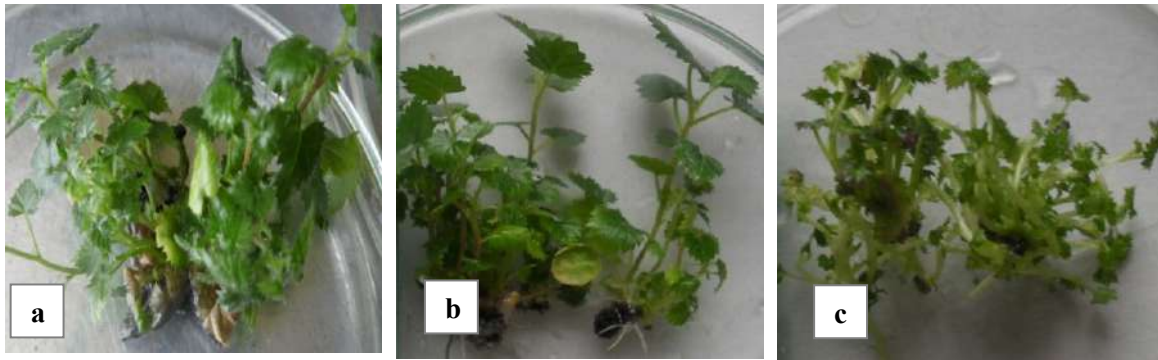


Fig. 1. Plantule de mur cultivate pe medii suplimentate cu diferite doze de BAP.

Notă: **a** – 0,3 mg/l; **b** – 0,5; mg/l; **c** – 0,7 mg/l)

Transplantarea *ex vitro* reprezintă faza de pregătire a plantulelor pentru trecerea la cultura *ex vitro* (seră și câmp). La trecerea plantulelor multiplicare *in vitro*, în procesul de aclimatizare *ex vitro*, se ține cont în mare măsură de substrat și de respectarea condițiilor optime (gradul de umiditate și afânare a substratului, valoarea pH-ului, compoziția substratului, expoziția și gradul de luminozitate) . Plantulele *in vitro* sunt crescute la intensitate redusă a luminii (1200-2000 lucși) și temperatura aerului – $23\pm 2^{\circ}\text{C}$. Aclimatizarea eficientă a murului s-a efectuat în 3 etape în decursul a 40-50 de zile:

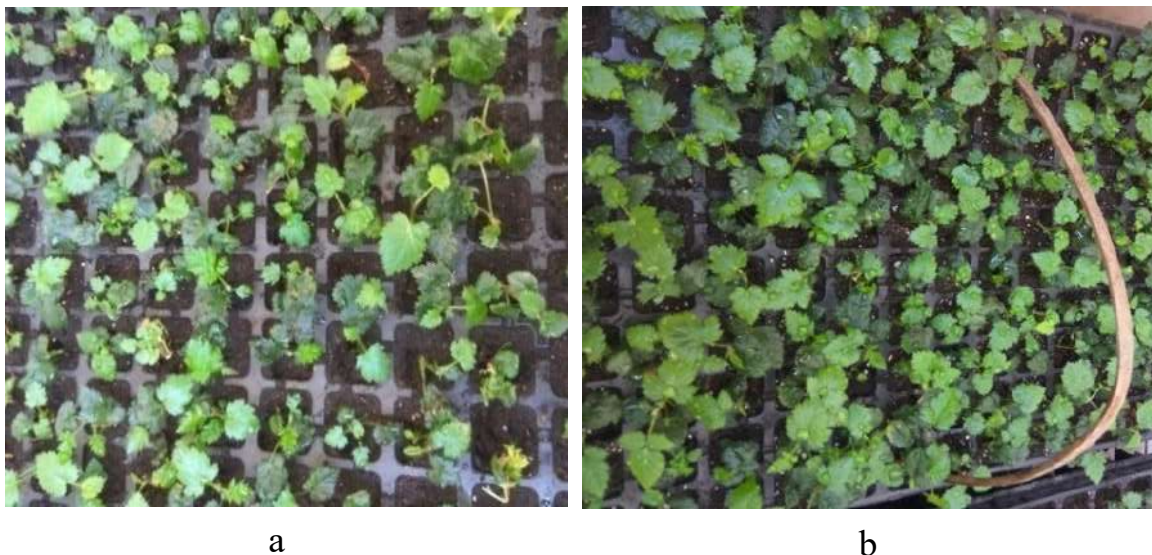


Fig. 2. Plantule în I-a și a II-a etapă de aclimatizare

Pe parcursul etapei a III-a pentru o dezvoltare normală se recomandă administrarea îngrășămintelor universale cu un conținut de NH_4NO_2 de 7%, P_2O_5 de 10%, K_2O – 12%. Administrarea fertilizanților s-a făcut în zona

rădăcinii, o dată la 14 zile, în concentrația de 1%, și foliar odată în lună în concentrația de 0,5 %. Cu scopul de proteja planta și a asigura dezvoltarea sistemului radicular au fost efectuate tratamente fitosanitare cu fungicide și tratamente cu soluții nutritive.

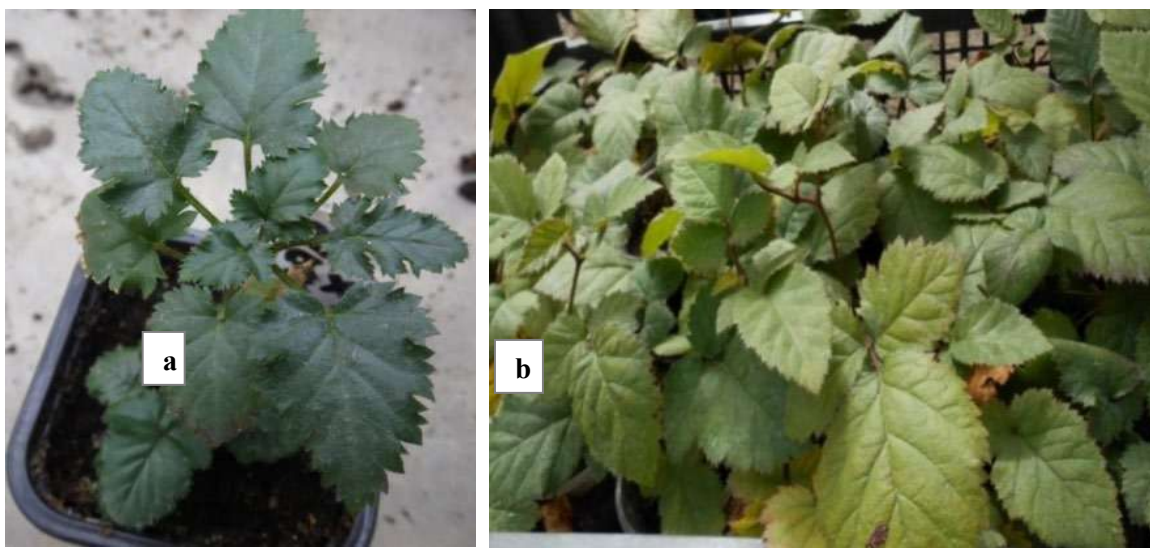


Fig. 3. Plantule ale soiului ‘Chester’

Fondarea unei plantații de mur este de importanță majoră. Cu scopul de a colecționa și diversifica cele mai valoroase și productive soiuri introduse de mur, este înființată plantația pe lotul experimental al GBNI. În primăvara și toamna anului 2014 s-au plantat soiurile de mur fără spini luate în cercetare, ulterior completată în anul 2015. Înființarea colecției de mur în GBNI a fost inițiată cu selectarea terenului. S-a ales un lot adăpostit de vânturi puternice, situat în apropierea unor fâșii de arbori. La fel s-a ținut cont de prezența surselor de apă pentru irigare. La parcelare s-a ținut cont de orientarea rândurilor, pe direcția nord-sud pentru crearea unui regim favorabil de iluminare și aerisire a lotului.

Astăzi în R. Moldova sunt înființate mai multe plantații de mur obținut prin micropropagare în laboratorul de Biotehnologie și Embriologie a GBNI în raionul Ialoveni, (1 ha), rn. Criuleni (1 ha), rn. Fălești (2 ha), rn. Orhei s. Piatra (2 ha). Plantația din satul Holercani, raionul Dubăsari cu o suprafață de 5 ha, a fost inițiată cu material săditor avirotic multiplicat *in vitro*, prin proiect de transfer tehnologic.

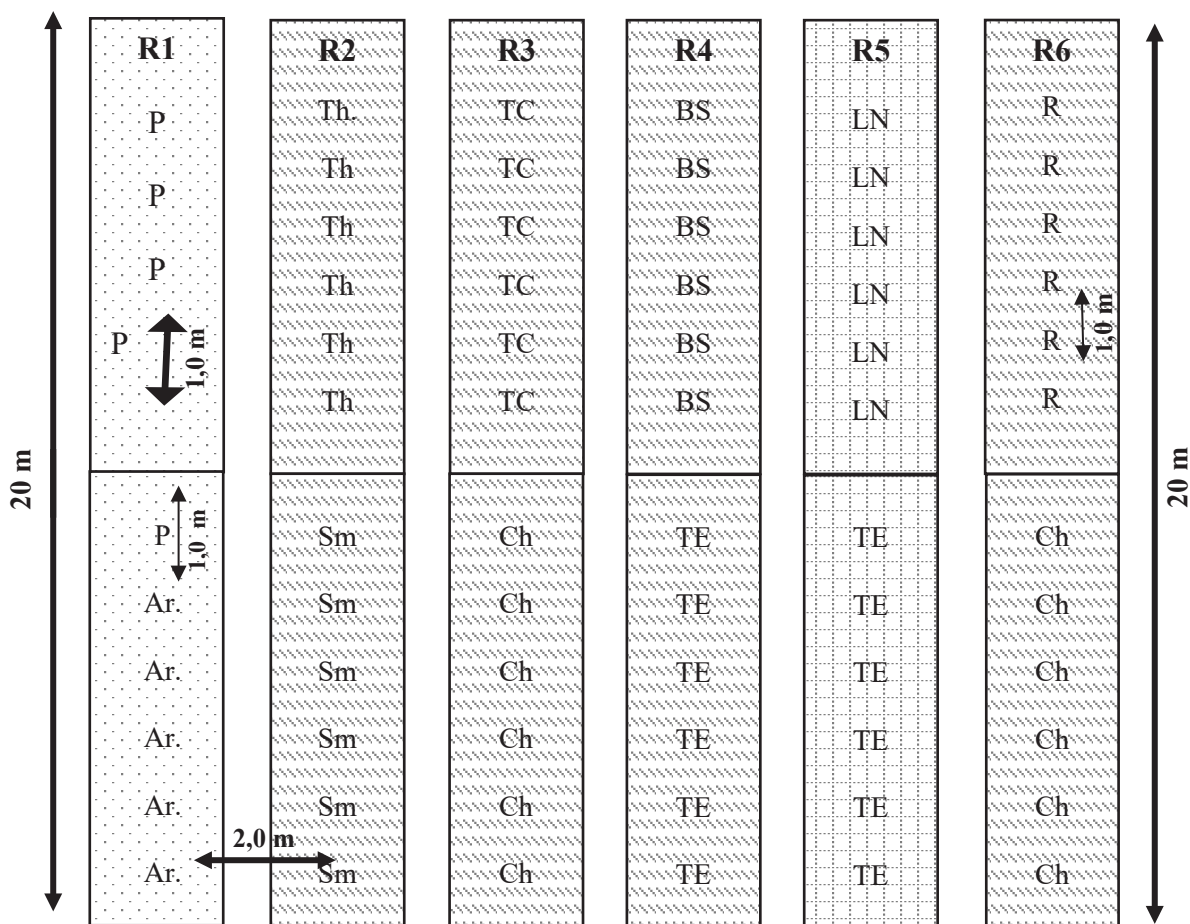


Fig. 4. Schema colecției de mur în Grădina Botanică

Notă: **P** – ‘Polar’, **Ar** – ‘Arapaho’, **Th** – ‘Thornfree’, **Sm** – Smoothstem, **LN** – ‘Loch Ness’, **TC** – ‘Triple Crown’, **BS** – ‘Black Satin’, **Ch** – ‘Chester’, **TE** – ‘Thornless Evergreen’, **R** – ‘Reuben’, 2,0 m – distanța dintre rânduri (pentru toate soiurile), 1,5 m – distanța dintre soiurile semierecte, repente, 1,0 m – distanța dintre plante la soiurile erecte lungimea rândului 20 m.

Cultivatorii se bucură de o productivitate sporită cu peste 10-15 tone la hectar anual, în funcție de soiul cultivat și agrotehnica aplicată.

R. Moldova este la o etapă incipientă în domeniul dezvoltării sectorului agrar de pomușoare, organizațiile „Pomușoarele Moldovei”, „Agricultura performantă în R. Moldova”, „Centrul de consultanță în afaceri”, proiectul „Îmbunătățirea productivității în cultivarea arbuștilor fructiferi și a căpșunului” contribuie substanțial la susținerea și dezvoltarea acestei ramuri. Unul din obiectivele comune ale acestor organizații și proiecte este asistența producătorilor privind tehnologiile moderne de producere a materialului săditor prin suport informațional specializat.

În ultimele decenii, pentru a satisface necesitățile crescânde ale populației cu fructe de mur, se investește în ameliorarea genotipurilor de mur cu caracteristici biologice valoroase, adaptate la tehnologii moderne de creștere și cu proprietăți gustative și terapeutice înalte.

Rezultatele cercetării au fost publicate în reviste recenzate. Comunicările științifice au fost prezentate și aprobate în rapoartele anuale ale consiliului științific al GBNI în perioada studiilor doctorale. Cele mai importante rezultate au fost prezentate în cadrul conferințelor științifice internaționale: International Symposium "Conservation of Plant Diversity", 3 edition, Chisinau, 2014; Conferința Științifică Internațională a Doctoranzilor: "Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: Viziuni ale Tinerilor Cercetători", ediția a III-a, Chișinău 2014, ediția a IV-a, 2015, ediția a V-a, 2016; International Symposium, dedicated to the 65th anniversary of the Botanical Garden (Institute) of the Academy of Sciences of Moldova Conservation of Plant Diversity, Chișinău, 2015; Conferința Națională cu participare internațională "Știința în Nordul Republicii: realizări, probleme, perspective" (ediția a II-a) Bălți, 2016. Simpozionul științific „Conservarea diversității plantelor *in situ* și *ex situ*”, Iași, 2016; Simpozion național cu participare internațională „Biotehnologii avansate — Realizări și Perspective”, ediția a IV-a, Chișinău 2016; International Symposium "Conservation of plant diversity" 5th edition, Chisinau, 2017.

Concluzii

1. Cultivarea murului în condițiile R. Moldova este eficientă deoarece planta este rezistentă la condițiile pedo-climatiche. Cu toate acestea, cercetarea particularităților de dezvoltare a acestei culturi, precum și aprecierea cerințelor față de factorii ecologici, ne-a permis să constatăm o posibilitate reală de introducere pe sectoare de producere a soiurilor *R. fruticosus* L. în R. Moldova, respectând anumite cerințe specifice în ceea ce privește condițiile de cultivare;

2. Dezvoltarea sectorului de pomușoare din R. Moldova generează o cerere mare a materialului săditor, calitatea cărui va influența și productivitatea plantelor, cultura "*in vitro*" a meristemelor constituie o metodă cu aplicație largă, pentru regenerarea plantelor libere de virusuri, înmulțirea rapidă, neformarea materialului săditor cu valoare biologică ridicată.