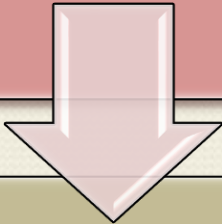
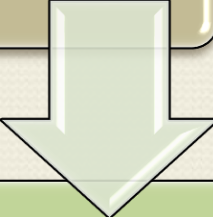


**Proiect ADER 5.2.3 - Stabilirea
tehnicilor privind înmulțirea *in vitro* la
unele specii de plante medicinale și
aromatice de importanță economică**

Faza 3 - Înfrădăcinarea *in vitro* a microlăstarilor și aclimatizarea *ex vitro* a vitroplantelor; evaluarea stabilității genetice a plantelor regenerare *in vitro*; evaluarea sintezei unor compuși biochimici în plantele *in vitro* și *ex vitro*



Termen: 01.11.2024 - 31.10.2025



Buget: 307.747,33 lei

Obiectivele fazei

Evaluarea influenței tipului și concentrației de auxină asupra capacității de înrădăcinare *in vitro* a microlăstarilor

Evaluarea potențialului de înrădăcinare a microlăstarilor regenerați *in vitro*

Evaluarea capacității de aclimatizare la condiții *ex vitro* a vitroplantelor

Evaluarea metodelor de aclimatizare a vitroplantelor la condiții *ex vitro*

Evaluarea uniformității genetice a plantelor regenerați *in vitro* cu plantele mamă

Evaluarea comparativă a sintezei unor compuși biochimici în plantele *in vitro* și *ex vitro*

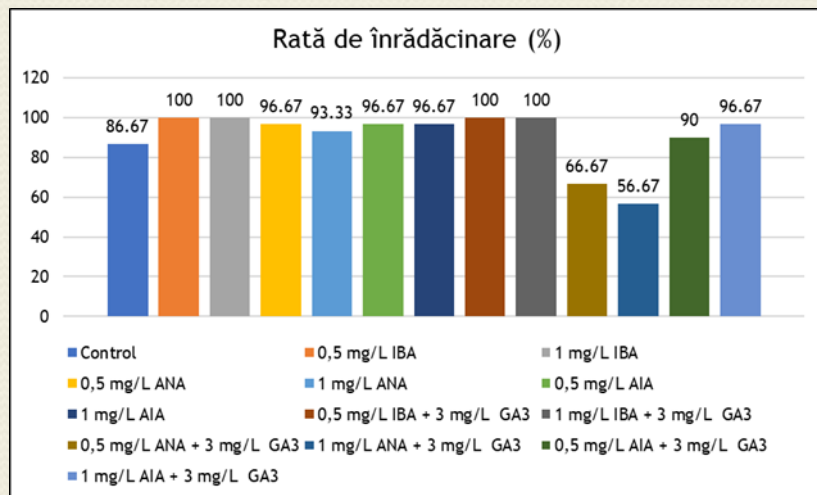
Diseminarea rezultatelor obținute în cadrul proiectului

Rezultate obținute

Activitatea 3.1. Transferul microlăstarilor regenerați în faza de multiplicare pe medii de înrădăcinare; evaluarea influenței tipului și concentrației de auxină asupra capacității de înrădăcinare *in vitro* a microlăstarilor (CP, P1, P2)

- Conducător de proiect - INCDBH Ștefănești

În cazul speciei *Thymus x citriodorus*, rezultatele obținute indică faptul că IBA este cel mai eficient fitohormon pentru stimularea înrădăcinării, fiind recomandată utilizarea sa la concentrații de 0,5-1 mg/L. Giberelina GA₃ nu oferă beneficii suplimentare și poate avea efecte negative în combinație cu ANA.

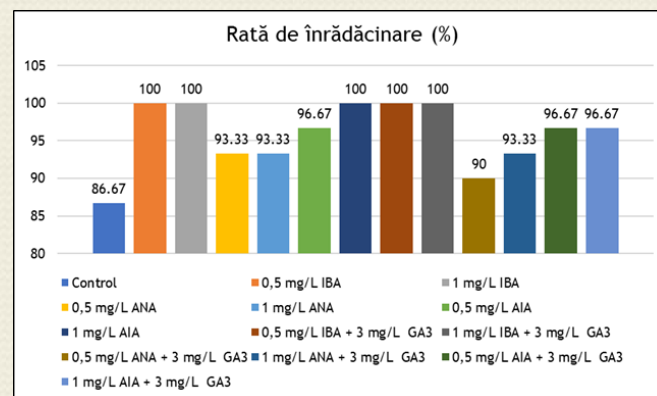


Influența tipului, concentrației și combinației de regulatori de creștere ai plantelor asupra ratei de înrădăcinare *in vitro* a lăstarilor de *Thymus x citriodorus*. Valorile reprezintă medii a 3 repetiții.



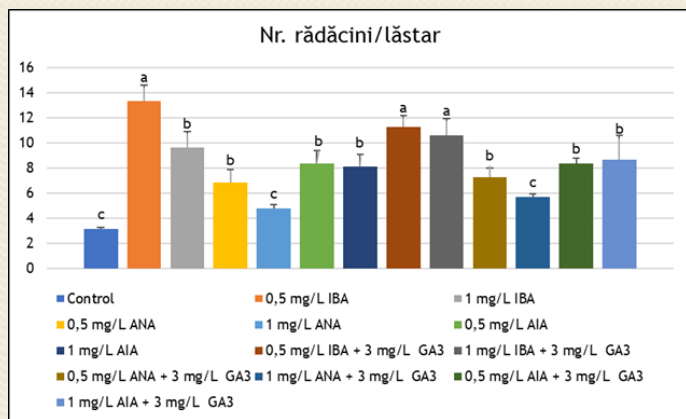
Înrădăcinarea microlăstarilor de *Thymus x citriodorus* pe mediul ½MS suplimentat cu 0,5 mg/L IBA

În cazul speciei *Plectranthus amboinicus*, IBA la concentrația de 0,5 mg/L, aplicată singură sau în combinație cu GA₃ (3 mg/L), reprezintă tratamentul optim pentru formarea unui sistem radicular bine dezvoltat, condiție esențială pentru aclimatizarea cu succes a plantelor regenerate *in vitro*.

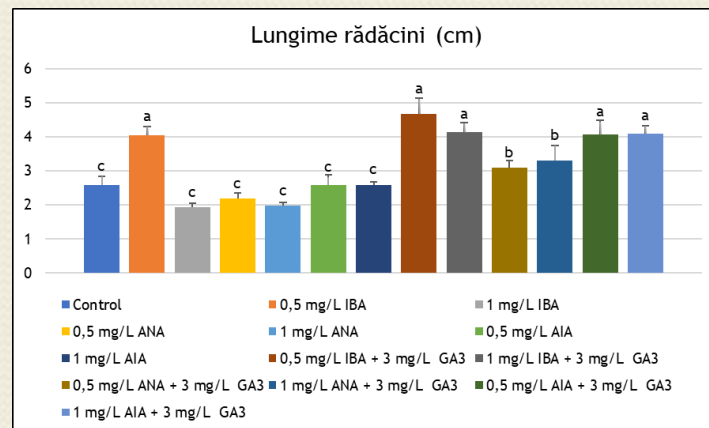


Înrădăcinarea *in vitro* a microlăstarilor de *Plectranthus amboinicus*

Influența tipului, concentrației și combinației de regulatori de creștere ai plantelor asupra ratei de înrădăcinare *in vitro* a lăstarilor de *Plectranthus amboinicus*. Valorile reprezintă medii a 3 repetiții.



Influența tipului, concentrației și combinației de regulatori de creștere ai plantelor asupra numărului de rădăcini/lăstar la *Plectranthus amboinicus*. Valorile reprezintă medii ± deviația standard. Literele mici diferite indică diferențe semnificative între tratamente, conform testului Tukey HSD ($P < 0,05$).



Influența tipului, concentrației și combinației de regulatori de creștere ai plantelor asupra lungimii rădăcinilor la *Plectranthus amboinicus*. Valorile reprezintă medii ± deviația standard. Literele mici diferite indică diferențe semnificative între tratamente, conform testului Tukey HSD ($P < 0,05$).

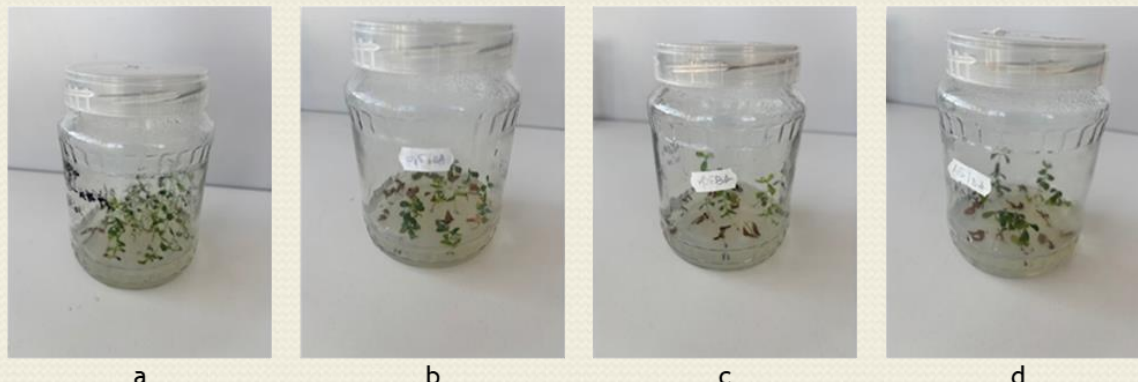
- **Partener 1 - USAMV Cluj**

În cazul speciei *Hypericum perforatum*, utilizarea IBA nu este favorabilă atunci când se utilizează inoculi uninodali, iar formarea spontană a rădăcinilor pe mediul fără auxine sugerează o capacitate intrinsecă de înrădăcinare.

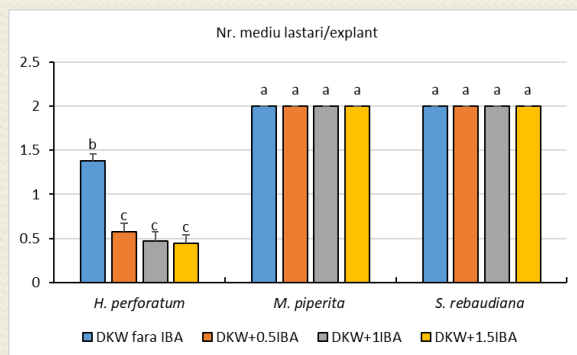
Mentha piperita răspunde foarte bine la IBA, în special în ceea ce privește inducerea rădăcinilor, iar concentrațiile mai mari favorizează numărul de rădăcini/explant, dar reduc ușor lungimea acestora.

Stevia rebaudiana a răspuns foarte bine la IBA, în special la concentrații moderate, unde se obține un echilibru între numărul și lungimea rădăcinilor și dezvoltarea lăstarilor.

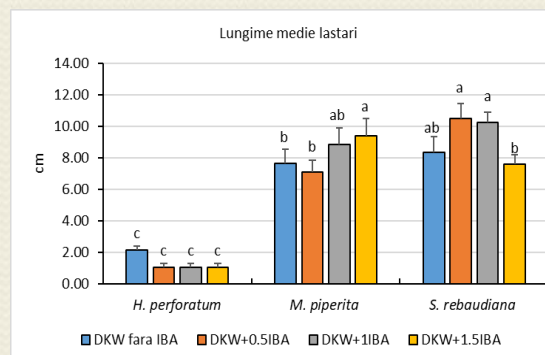
Răspunsul la IBA este specific în funcție de specie. În cazul utilizării de explante uninodale cu muguri axilari, *Mentha piperita* și *Stevia rebaudiana* au prezentat răspunsuri pozitive clare la tratamentele cu IBA, în timp ce la *Hypericum perforatum* IBA a avut un efect inhibitor. Doza optimă de IBA pentru stimularea înrădăcinării a fost de 1-1,5 mg/L pentru mentă și stevia, în timp ce pentru sunătoare, cel mai eficient a fost mediul fără IBA.



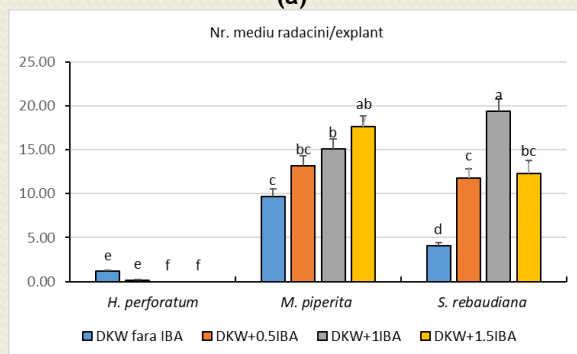
Înrădăcinarea *in vitro* a explantelor uninodale la *Hypericum perforatum* pe mediul de cultură DKW fără auxine (a) și suplimentat cu 0,5 mg/L IBA (b), 1 mg/L IBA (c), 1,5 mg/L IBA (d)



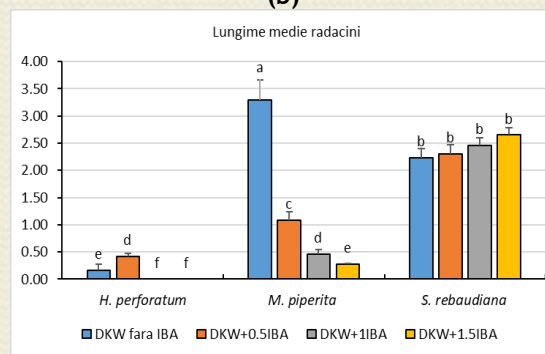
(a)



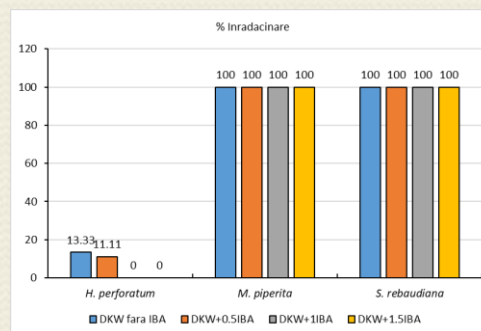
(b)



(c)



(d)



(e)

Înrădăcinarea *in vitro* pe mediul de cultură DKW suplimentat cu 0,5 mg/L IBA, 1 mg/L IBA și 1,5 mg/L IBA la *Hypericum perforatum*, *Mentha piperita* și *Stevia rebaudiana*: (a) număr mediu de lăstari/inocul; (b) lungimea medie a lăstarilor; (c) număr mediu de rădăcini/explant; (d) lungimea medie a rădăcinilor; (e) procentul de înrădăcinare



(a)



(b)



(c)



(d)

Înrădăcinarea *in vitro* la *Mentha piperita* pe mediul de cultură DKW fără auxine (a) și suplimentat cu 0,5 mg/L IBA (b), 1 mg/L IBA (c), 1,5 mg/L IBA (d)



(a)



(b)

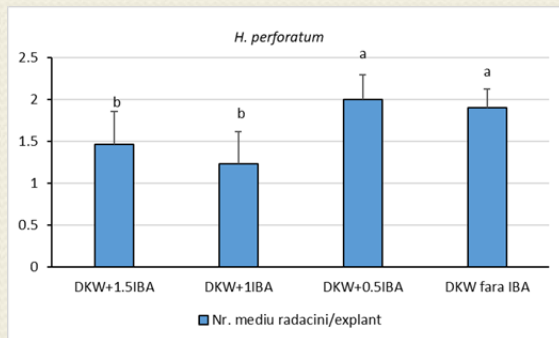


(c)

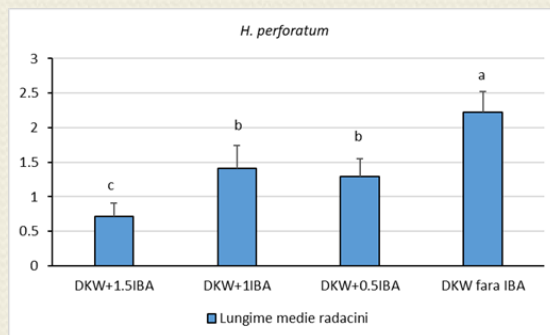


(d)

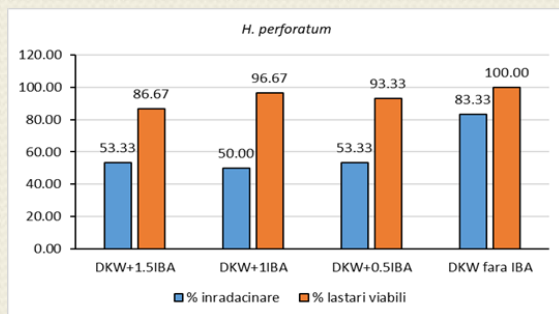
Înrădăcinarea *in vitro* la *Stevia rebaudiana* pe mediul de cultură DKW fără auxine (a) și suplimentat cu 0,5 mg/L IBA (b), 1 mg/L IBA (c), 1,5 mg/L IBA (d)



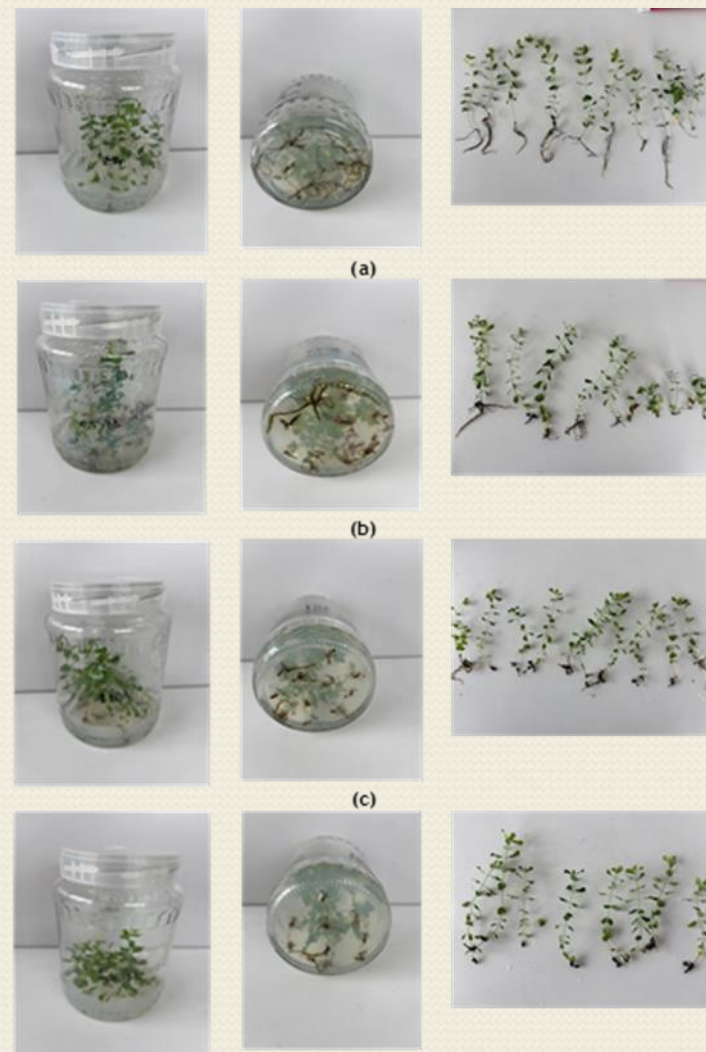
(a)



(b)



(c)



(d)

Înrădăcinarea *in vitro* pe mediul de cultură DKW fără IBA și suplimentat cu 0,5 mg/L IBA, 1 mg/L IBA și 1,5 mg/L IBA la *Hypericum perforatum*:

(a) număr mediu de rădăcini/explant inițial; (b) lungimea medie a rădăcinilor; (c) procentul de înrădăcinare și procentul de lăstari viabili

Înrădăcinarea *in vitro* a explantelor cu mugure apical la *Hypericum perforatum* pe mediul de cultură DKW fără auxine (a) și suplimentat cu 0,5 mg/L IBA (b), 1 mg/L IBA (c), 1,5 mg/L IBA (d)

- **Partener 2 - USAMV București**

În cazul *Ocimum* sp., procentul de explante înrădăcinate a fost de 100% pentru toate cele 6 variante de medii de cultură. Totuși, pe variantele de medii de înrădăcinare suplimentate cu 0,5 și 1 mg/L ANA s-a observat că, atât procesul de rizogeneză, cât și de creștere a lăstarilor, au fost mai lente. De asemenea, comparând variantele cu AIB și AIA, concentrațiile mai ridicate de auxină, de 1 mg/L, au dus la o rizogeneză mai lentă comparativ cu variantele suplimentate cu 0,5 mg/L AIB și AIA.

Deși înrădăcinarea a avut loc cu succes pe toate variantele de medii de înrădăcinare, se recomandă folosirea auxinelor de tipul AIB și AIA, în concentrații de 0,5 mg/L.

Dintre toate cele șapte soiuri studiate ('Macedon', 'Mir roșu', 'Tulsi', 'Patriarhie', 'Busuioc cu aromă de mir', 'Bulatum' și 'Aromat de Buzău'), soiul 'Patriarhie' a avut viteza cea mai mare de înrădăcinare și de creștere, iar cea mai scăzută a fost observată la soiul 'Aromat de Buzău'.



Lăstari înrădăcinați *in vitro* din soiul 'Patriarhie', pe mediul de înrădăcinare V1 (0,5 mg/L AIB)

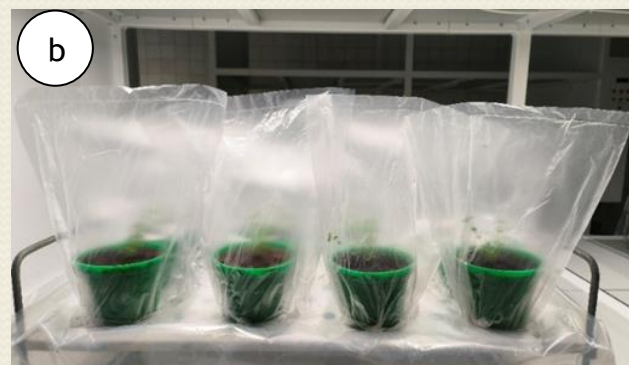


Lăstari înrădăcinați *in vitro* din soiul 'Mir roșu', pe mediul de înrădăcinare V1 (0,5 mg/L AIB)

Activitatea 3.2. Transferul *ex vitro* a microlăstarilor înrădăcinați *in vitro* în vederea aclimatizării; evaluarea capacității de aclimatizare la condiții *ex vitro* a vitroplantelor (CP, P1, P2)

- Conducător de proiect - INCDBH Ștefănești

În cazul ambelor specii luate în studiu (*Thymus x citriodorus* și *Plectranthus amboinicus*), randamentul la aclimatizare al plantelor regenerate *in vitro* nu a fost influențat de suportul nutritiv folosit, pe ambele substraturi nutritive utilizate (pastile de turbă tip Jiffy și amestec format din turbă, mranită și perlit în proporție de 2:1:1) obținându-se o rată de aclimatizare de 100%.



Aclimatizarea la condiții *ex vitro* a plantulelor de *Thymus x citriodorus* înrădăcinate *in vitro*: a) pastile de turbă (tip Jiffy); b) amestec de turbă, mranită și perlit (2:1:1)



Aclimatizarea la condiții *ex vitro* a plantulelor de *Plectranthus amboinicus* înrădăcinate *in vitro*: a) pastile de turbă (tip Jiffy); b) amestec de turbă, mranită și perlit (2:1:1)

În scopul diminuării cheltuielilor aferente culturii *in vitro*, dar și a reducerii perioadei de producere a materialului săditor prin micropropagare, a fost testată și posibilitatea înrădăcinării *in vivo* a microlăstarilor de *Thymus x citriodorus* și *Plectranthus amboinicus* concomitent cu aclimatizarea.

În cazul ambelor specii luate în studiu, pe ambele substraturi de înrădăcinare utilizate (perlite și pastile de turbă tip Jiffy), cele mai bune rezultate în ceea ce privește rata de înrădăcinare *in vivo* (100%) s-au obținut pe variantele în care microlăstarii au fost tratați cu Radi Stim.

Plantele aclimatizate au fost ulterior fortificate la ghivece în amestec pe bază de turbă.

Influența substratului de cultură și a stimulatorului de înrădăcinare asupra capacității de înrădăcinare *in vivo* a microlăstarilor de *Thymus x citriodorus*.

Valorile reprezintă medii a 3 repetiții.

Substratul de înrădăcinare	Stimulatorul de înrădăcinare	Rata de înrădăcinare <i>in vivo</i> (%)
perlite	-	93,33
perlite	Radi Stim nr. 1	100
pastile de turbă (tip Jiffy)	-	90
pastile de turbă (tip Jiffy)	Radi Stim nr. 1	100

Influența substratului de cultură și a stimulatorului de înrădăcinare asupra capacității de înrădăcinare *in vivo* a microlăstarilor de *Plectranthus amboinicus*.

Valorile reprezintă medii a 3 repetiții.

Substratul de înrădăcinare	Stimulatorul de înrădăcinare	Rata de înrădăcinare <i>in vivo</i> (%)
perlite	-	96,67
perlite	Radi Stim nr. 1	100
pastile de turbă (tip Jiffy)	-	93,33
pastile de turbă (tip Jiffy)	Radi Stim nr. 1	100



Plante de *Thymus x citriodorus* regenerate *in vitro* fortificate la ghiveci

Microlăstari de *Thymus x citriodorus* înrădăcinați *in vivo*:
a) substrat de perlit; b) pastile de turbă tip Jiffy



Plante de *Plectranthus amboinicus* regenerate *in vitro* fortificate la ghiveci

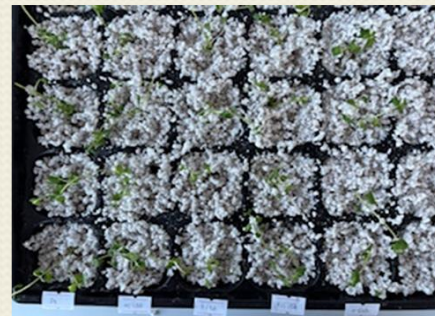
Microlăstari de *Plectranthus amboinicus* înrădăcinați *in vivo*:
a) substrat de perlit; b) pastile de turbă tip Jiffy

- Partener 1 - USAMV Cluj

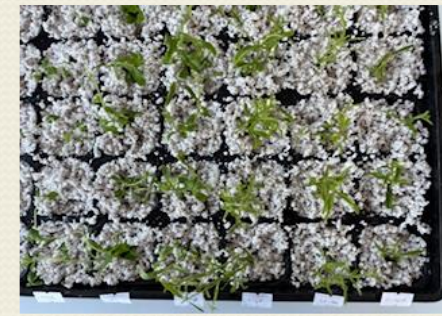
Evaluarea capacității de aclimatizare a vitroplantelor de *Stevia rebaudiana*, *Mentha piperita* și *Hypericum perforatum* s-a realizat prin testarea următoarelor metode de aclimatizare: aclimatizarea în perlit a plantulelor înrădăcinate *in vitro*; aclimatizarea în perlit a lăstarilor fără rădăcini; aclimatizarea plantulelor înrădăcinate *in vitro* în hidrocultură.

La *Hypericum perforatum*, plantulele înrădăcinate *in vitro* s-au aclimatizat în proporție de $98,66 \pm 0,88\%$, iar lăstarii fără rădăcină $85,15 \pm 0,34\%$ în perlit.

Pentru lăstarii înrădăcinați *in vitro*, procentele de aclimatizare în perlit au fost de 96,67% pentru *Mentha piperita* și 93,33% pentru *Stevia rebaudiana*, iar pentru lăstarii neîn rădăcinați procentele de aclimatizare au fost de 93,33% la *Stevia rebaudiana* și 94,66% la *Mentha piperita*.



(a)



(b)



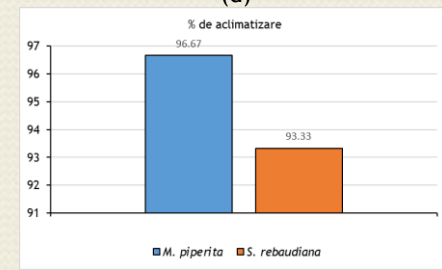
(c)



(d)



(e)



(f)

Aclimatizarea în perlit: (a, c) *Mentha piperita*; (b, d) *Stevia rebaudiana*; (e) miniseră Versay, T2; (f) procente de aclimatizare

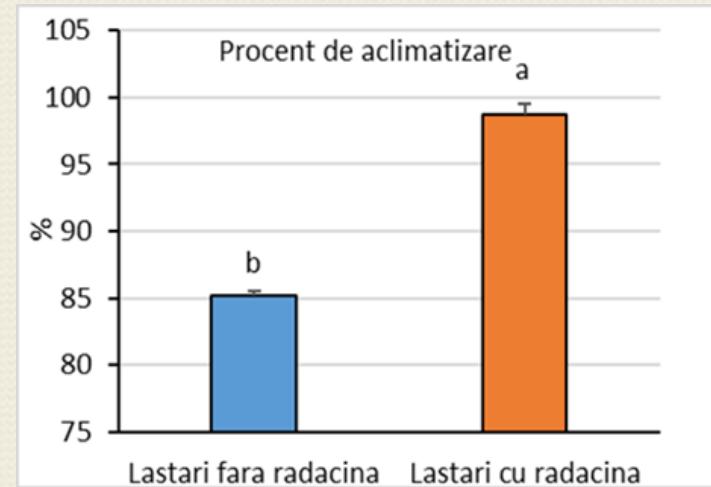


(a)

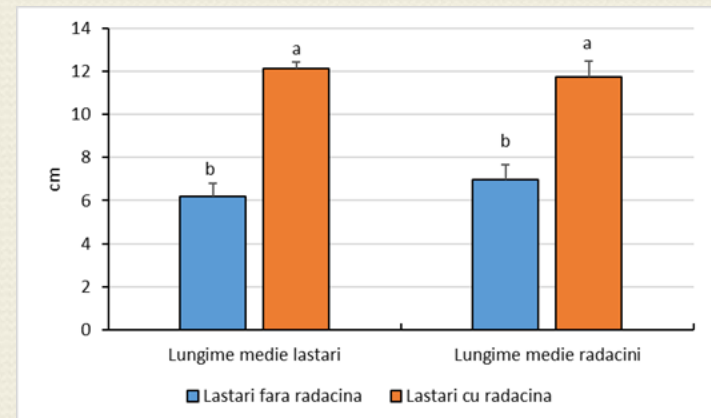


(b)

Aclimatizarea și înrădăcinarea în perlit la *Hypericum perforatum*: (a) plantule înrădăcinate *in vitro*; (b) lăstari fără rădăcină



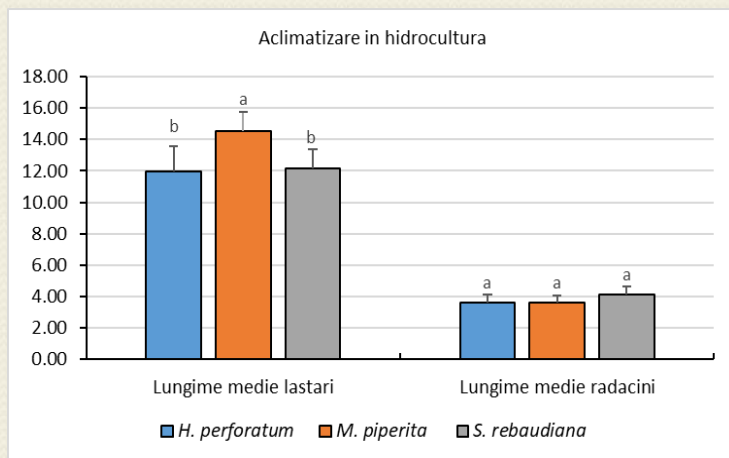
(a)



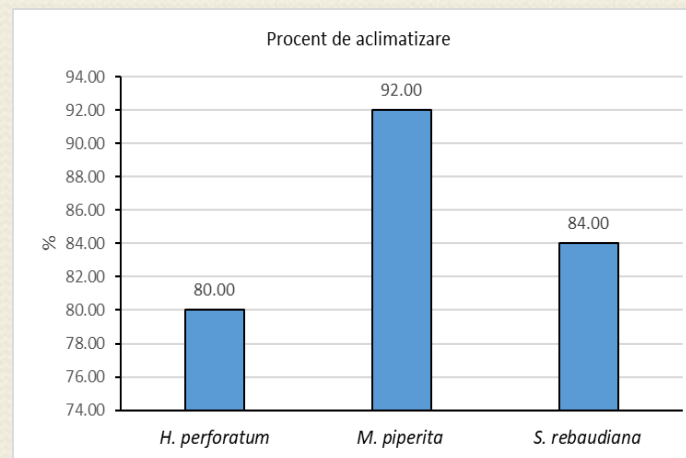
(b)

Aclimatizarea în perlit a lăstarilor înrădăcinați și neîn rădăcinați de *Hypericum perforatum*: (a) procentul de aclimatizare; (b) lungimea medie a lăstarilor și a rădăcinilor

În cazul aclimatizării în hidro cultură, procentele de aclimatizare au fost de 92% la *Mentha piperita*, urmată de *Stevia rebaudiana* cu 84% și *Hypericum perforatum* cu 80%.

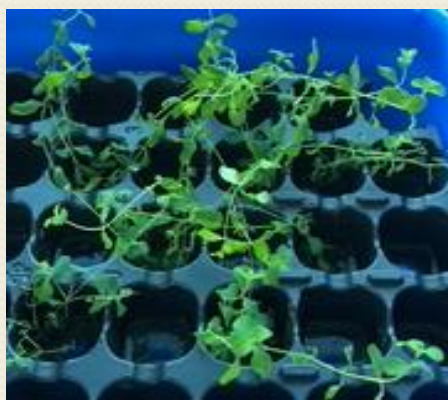


(a)



(b)

Aclimatizarea în hidro cultură la *Hypericum perforatum*, *Mentha piperita* și *Stevia rebaudiana*



a



b



c

Aclimatizarea în hidro cultură: (a) *Hypericum perforatum*; (b) *Mentha piperita*; (c) *Stevia rebaudiana*

Plantele înrădăcinate și aclimatizate rezultate din toate metodele de aclimatizare au fost transferate în ghivece cu diametrul de 7 cm sau în plăci alveolare, iar procentele de prindere au fost de 100% la *Stevia rebaudiana* și *Mentha piperita* și de 93% la *Hypericum perforatum*.



(a)



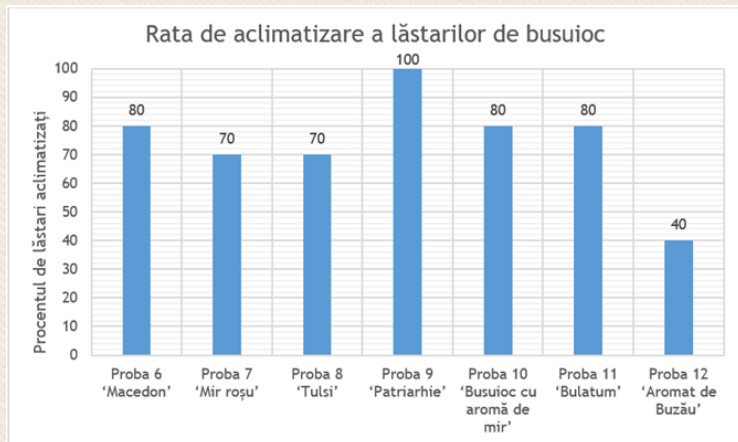
(b)

Transferul plantelor aclimatizate în turbă: (a) *Stevia rebaudiana* la ghivece; (b) *Hypericum perforatum* în placă alveolară

- **Partener 2 - USAMV București**

Pentru aclimatizarea lăstarilor de busuioc înrădăcinați *in vitro* s-a folosit un amestec de substrat format din turbă și nisip (Agro CS - substrat pentru răsaduri), amestecat cu perlit și vermiculit, în raport de 1:1:1.

Rata de aclimatizare a fost dependentă de soi. Singurul soi cu o rată de aclimatizare de 100% a fost soiul 'Patriarhie'. Cele mai slabe rezultate au fost înregistrate la soiul 'Aromat de Buzău', la care procentul de plante aclimatizate a fost doar de 40%. Soiurile 'Macedon', 'Busuioc cu aromă de mir' și 'Bulatum' au înregistrat procente de aclimatizare de 80%, iar soiurile 'Mir roșu' și 'Tulsi' au avut procente de 70%.



Rata de aclimatizare a lăstarilor de busuioc la soiurile luate în studiu



Aclimatizarea lăstarilor înrădăcinați la proba 9, soiul 'Patriarhie'



Lăstari înrădăcinați *in vitro* în timpul aclimatizării - Proba 6, soiul 'Macedon'

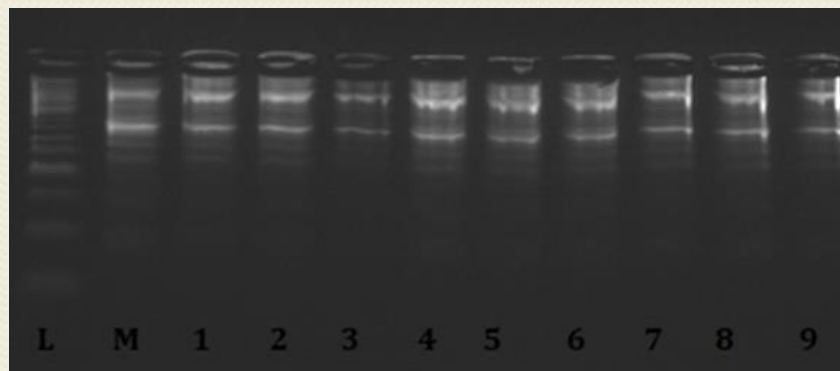
Activitatea 3.3. Analiza uniformității genetice a plantelor regenerate *in vitro* cu plantele mamă (CP, P1)

- Conducător de proiect - INCDBH Ștefănești

Obiectivul acestei activități a fost evaluarea fidelității genetice a plantelor de *Thymus x citriodorus* și *Plectranthus amboinicus* propagate *in vitro* folosind markeri moleculari RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA).

În cazul ambelor specii luate în studiu, analizele moleculare au confirmat fidelitatea genetică a plantelor micropropagate, respectiv lipsa apariției variațiilor somaclonale detectabile.

Aceste rezultate validează protocoalele de micropropagare aplicate ca fiind strategii fiabile pentru propagarea clonală și conservarea germoplasmei de *Thymus x citriodorus* și *Plectranthus amboinicus*.



Profiluri electroforetice RAPD reprezentative obținute cu primerul OPA-09. Benzile 1-10: ADN provenit de la planta mamă, plantule propagate *in vitro* (patru probe) și plante aclimatizate (cinci probe); L: DNA ladder (100 bp)

Profilurile RAPD obținute pentru plantele mamă și plantele micropropagate de *Thymus x citriodorus*

Numele primerului	Intervalul de dimensiuni al benzilor (pb) - Planta mamă	Intervalul de dimensiuni al benzilor (pb) - Plante <i>in vitro</i>	Interval de dimensiuni al benzilor (pb) - Plante aclimatizate	Numărul de benzi - Planta mamă	Numărul de benzi - Plante <i>in vitro</i>	Numărul de benzi - Plante aclimatizate
OPA-01	300-1800	300-1800	300-1800	5	5	5
OPA-02	250-2000	250-2000	250-2000	7	7	7
OPA-07	400-1500	400-1500	400-1500	3	3	3
OPA-08	200-2000	200-2000	200-2000	8	8	8
OPA-09	350-1600	350-1600	350-1600	4	4	4
Total	-	-	-	27	27	27

Profilurile RAPD obținute pentru plantele mamă și plantele micropropagate de *Plectranthus amboinicus*

Numele primerului	Intervalul de dimensiuni al benzilor (pb) - Planta mamă	Intervalul de dimensiuni al benzilor (pb) - Plante <i>in vitro</i>	Interval de dimensiuni al benzilor (pb) - Plante aclimatizate	Numărul de benzi - Planta mamă	Numărul de benzi - Plante <i>in vitro</i>	Numărul de benzi - Plante aclimatizate
OPX-01	300-1500	300-1500	300-1500	4	4	4
OPX-02	250-1600	250-1600	250-1600	6	6	6
OPX-03	400-1400	400-1400	400-1400	5	5	5
OPX-04	350-1800	350-1800	350-1800	9	9	9
OPX-05	300-1700	300-1700	300-1700	7	7	7
Total	-	-	-	31	31	31

- **Partener 1 - USAMV Cluj**

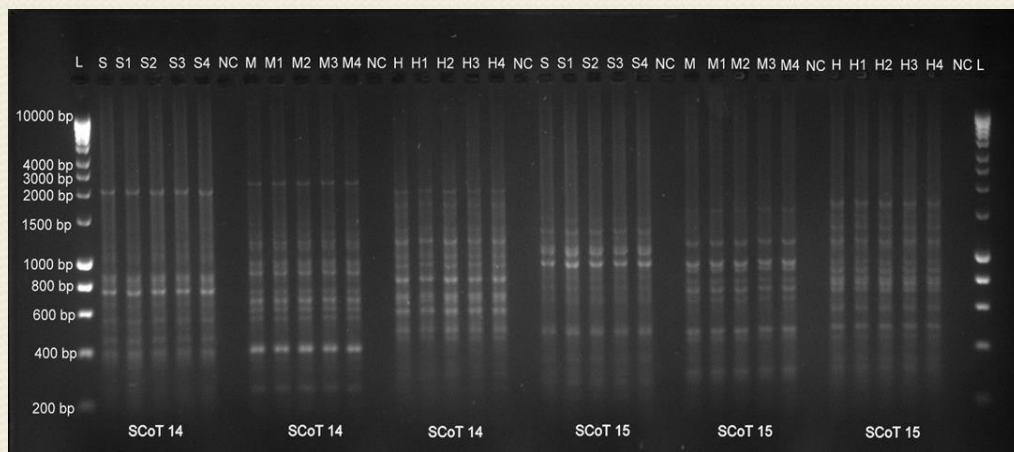
Obiectivul acestei activități a fost evaluarea fidelității genetice a plantelor propagate *in vitro* din speciile *Stevia rebaudiana*, *Mentha piperita*, *Hypericum perforatum*, *Plectranthus amboinicus*, *Thymus* × *citriodorus* și *Ocimum* sp. comparativ cu plantele mamă, folosind markeri moleculari SCoT (Start Codon Targeted) și ISSR (Inter Simple Sequence Repeat).

Atât analiza SCoT, cât și ISSR au confirmat fidelitatea genetică a vitroplantelor față de plantele mamă pentru toate speciile analizate.

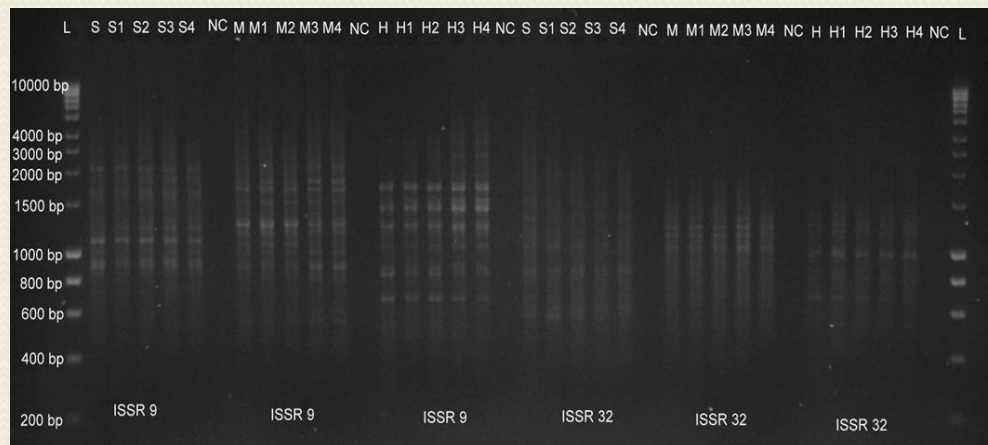
Lipsa polimorfismului indică o stabilitate genetică ridicată în urma micropropagării, confirmând că această metodă de înmulțire nu a indus variații genetice detectabile.

Numărul și intervalul de dimensiuni (pb) ale benzilor monomorfe SCoT și ISSR amplificate

Numele primerului	Interval de dimensiuni al benzilor monomorfe (bp)			Numărul de benzi monomorfe		
	<i>Stevia rebaudiana</i>	<i>Mentha piperita</i>	<i>Hypericum perforatum</i>	<i>Stevia rebaudiana</i>	<i>Mentha piperita</i>	<i>Hypericum perforatum</i>
SCoT 14	400-2000	300-2200	450-1800	10	15	13
SCoT 15	300-1500	300-1700	300-1800	9	11	14
SCoT 24	350-1700	500-1500	500-1700	9	8	7
SCoT 26	400-2000	600-2000	550-2500	8	7	8
Total	-	-	-	36	41	42
ISSR 2	300-1500	400-2000	400-2000	7	8	10
ISSR 9	700-2200	500-1800	500-3000	8	10	11
ISSR 12	600-2000	800-3000	500-2200	10	8	12
ISSR 14	300-2500	400-1800	300-2200	7	8	10
Total	-	-	-	41	40	50



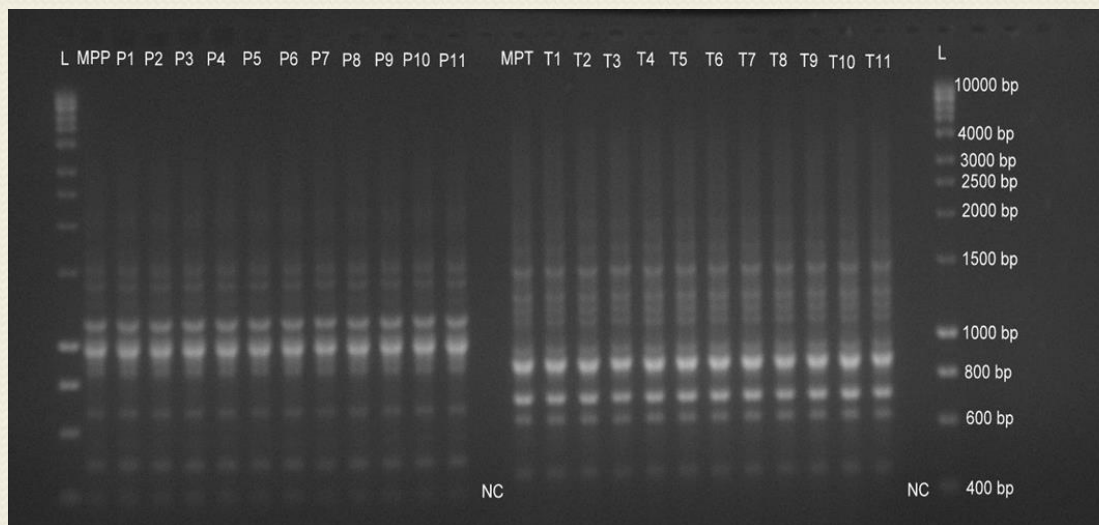
Profilurile SCoT ale plantelor mamă și ale vitroplantelor aclimatizate selectate de *Stevia rebaudiana* (S1-S4), *Mentha piperita* (M1-M4) și *Hypericum perforatum* (H1-H4) generate de primerii SCoT 14 și SCoT 15. Benzile: S, M, H - benzi SCoT de la plantele mamă; L - marker molecular (1 Kb HyperLadder, Bioline, Marea Britanie); NC - probe de control fără ADN



Profilurile ISSR ale plantelor mamă și ale vitroplantelor aclimatizate selectate de *Stevia rebaudiana* (S1-S4), *Mentha piperita* (M1-M4) și *Hypericum perforatum* (H1-H4) generate de primerii ISSR 9 și ISSR 32. Benzile: S, M, H - benzi ISSR de la plantele mamă; L - marker molecular (1 Kb HyperLadder, Bioline, Marea Britanie); NC - probe de control fără ADN

Numărul și intervalul de dimensiuni ale benzilor SCoT amplificate monomorfe detectate la speciile de plante medicinale *Plectranthus amboinicus* și *Thymus × citriodorus*

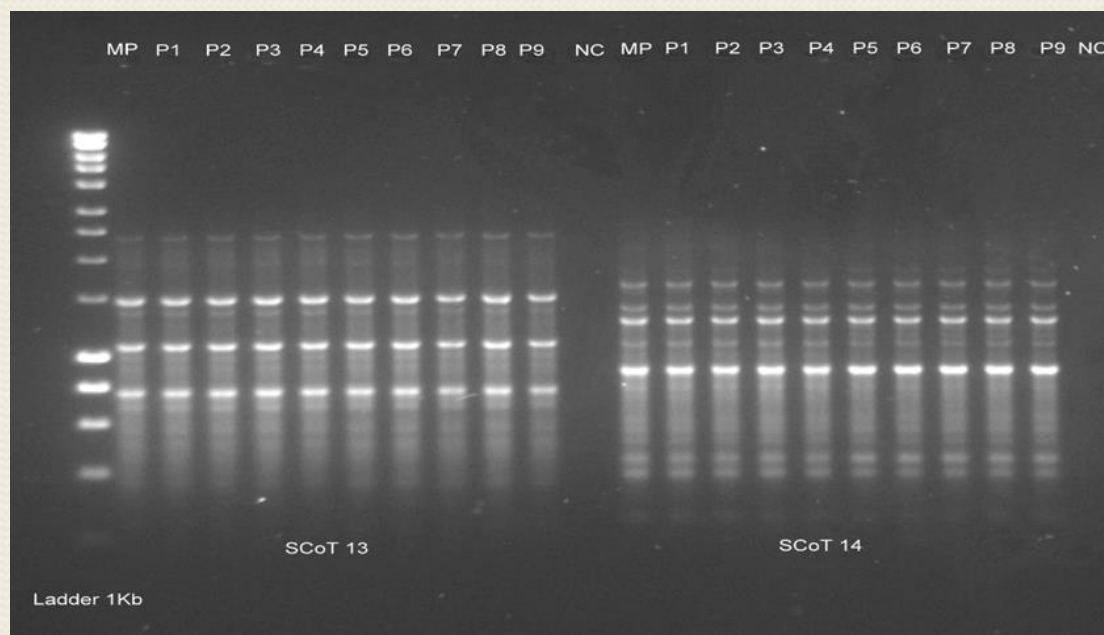
Numele primerului	Secvența de nucleotide 5'-3' a primerului	Numărul de benzi monomorfe		Intervalul de dimensiuni al benzilor (bp)	
		<i>Plectranthus amboinicus</i>	<i>Thymus × citriodorus</i>	<i>Plectranthus amboinicus</i>	<i>Thymus × citriodorus</i>
SCoT 1	CAACAATGGCTACCACCA	7	6	1000-3500	900-3000
SCoT 3	CAACAATGGCTACCACCG	10	9	400-2500	450-2000
SCoT 4	CAACAATGGCTACCACCT	8	7	500-2000	400-1500
SCoT 10	CAACAATGGCTACCAGCC	7	6	500-2000	450-2000
SCoT 11	AAGCAATGGCTACCACCA	9	8	400-2500	400-2000
SCoT 25	ACCATGGCTACCACCGGG	8	7	400-2500	300-3000
Total		49	43		



Profilul genetic generat cu primerul SCoT 3 pentru plantele mamă de *Plectranthus amboinicus* (MPP) și *Thymus × citriodorus* (MPT) și plantele lor crescute *in vitro* (P1-P11; T1-T11) ilustrează identitatea genetică pentru fiecare specie de plantă medicinală. L - marker molecular, 1 kb Ladder (Fermentas, Leon-Rot, Germania); control NC-negativ

Primerii SCoT selectați pentru analiza uniformității genetice a plantelor de busuioc regenerate *in vitro*

Denumire primer	Secvența de nucleotide 5'-3' a primerului
SCoT 13	5'-ACCATGGCTACCACCGCA-3'
SCoT 14	5'-ACGACATGGCGACCACGC-3'



Profilul electroforetic obținut în urma amplificării PCR cu primerii SCoT 13 și SCoT 14 la soiul 'Aromat de Buzău'. L-1Kb ladder (Bioline); MP - plantele mamă; P1-P9 vitroplante

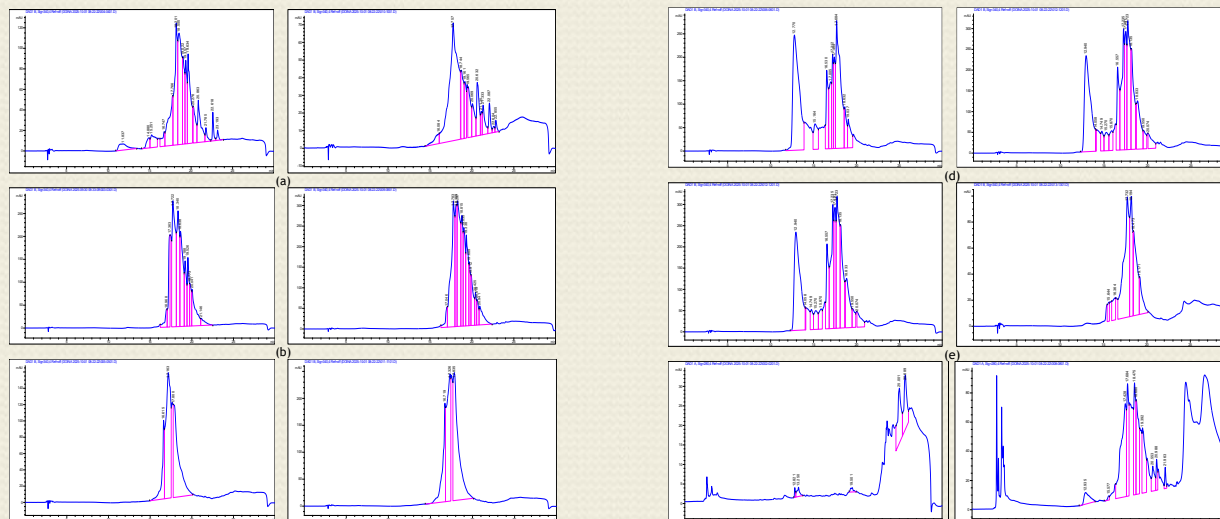
Activitatea 3.4. Efectuarea de analize chimice comparative la plantele *in vitro* și *ex vitro* (P1)

- Partener 1 - USAMV Cluj

În cele 6 plante medicinale cultivate *in vitro* și ghiveci s-au identificat 26 de compuși fenolici din subclasele: acizi hidroxicinamici (5), flavonoli (5), flavone (10), floroglucinoli (4) și terpene (2).

Cel mai mare conținut de compuși fenolici totali (TPC) exprimat în $\mu\text{g GA/g}$ probă proaspătă s-a obținut la *Hypericum perforatum* (6522 la ghiveci și 6352.909 *in vitro*), în timp ce *Plectranthus amboinicus* a fost specia cu cel mai scăzut conținut de compuși fenolici (55.091 la ghiveci și 76.364 *in vitro*).

Conținutul de flavonoide totale (TFC) a fost maxim în *Hypericum perforatum* și minim în *Plectranthus amboinicus*.



Cromatograme HPLC: (a) *Mentha piperita*; (b) *Ocimum* sp.; (c) *Thymus x citriodorus*; (d) *Hypericum perforatum*; (e) *Stevia rebaudiana*; (f) *Plectranthus amboinicus* (stânga - ghiveci, dreapta - *in vitro*)

Identificarea compușilor fenolici în probele de plante medicinale și aromatice provenite din culturi *in vitro* și *ex vitro*

Peak	R _t (min)	UV λ _{max} (nm)	[M+H] ⁺ (m/z)	Compus	Subclasa	<i>Mentha piperita</i>	<i>Ocimum sp.</i>	<i>Tymus x citriodorus</i>	<i>Hypericum perforatum</i>	<i>Stevia rebaudiana</i>	<i>Plectranthus amboinicus</i>
1	12.82	331	355	5-Caffeoylquinic acid (Chlorogenic acid)	Hydroxycinnamic acid	+				+	+
2	13.25	330	181	Caffeic acid	Hydroxycinnamic acid						+
3	15.16	290	523	Pseudohypericin	Naphthodianthron				+		
4	15.39	360,255	611,303	Quercetin-rutinoside	Flavonol					+	
5	15.45	340,265	639,287	Luteolin-diglucuronide	Flavone	+					
6	15.83	360,255	465,303	Quercetin-galactoside	Flavonol				+	+	
7	16.61	340,265	595,287	Luteolin-rutinoside	Flavone			+			
8	17.31	360,255	449,303	Quercetin-rhamnoside	Flavonol				+		
9	17.63	322	467	Hyperfirin	Phloroglucinol				+		
10	17.68	355,265	595,287	Kaempferol-rutinoside	Flavonol					+	
11	17.76	345,265	608,300	Diosmetin-rutinoside	Flavone	+					
12	17.95	330	361	Rosmarinic acid	Hydroxycinnamic acid	+	+	+			
13	18.19	355,265	449,287	Kaempferol-glucoside	Flavonol					+	
14	18.56	340,265	449,287	Luteolin-glucoside	Flavone	+					
15	18.63	320	551	Adhyperforin	Phloroglucinol				+		

Peak	R _t (min)	UV λ _{max} (nm)	[M+H] ⁺ (m/z)	Compus	Subclasa	<i>Mentha piperita</i>	<i>Ocimum sp.</i>	<i>Tymus x citriodorus</i>	<i>Hypericum perforatum</i>	<i>Stevia rebaudiana</i>	<i>Plectranthus amboinicus</i>
16	18.89	340,265	463,287	Luteolin-glucuronide	Flavone		+				
17	19.34	323	517	3,4 - Dicafeoylquinic acid	Hydroxycinnamic acid		+	+			
18	19.53	330,260	317	6-Methoxyluteolin (Nepetin)	Flavone	+					
19	19.63	332	517	3,5 - Dicafeoylquinic acid	Hydroxycinnamic acid	+					
20	19.86	322	481	Adhyperfirin	Phloroglucinol				+		
21	20.85	340,265	287	Luteolin	Flavone	+					
22	20.91	330	344	Rosmadiol	Terpene		+				
23	21.79	340,270	345	5,6-Dihydroxy- 7,8,4'- trimethoxyflavone (Pebrellin)	Flavone	+					
24	22.46	330	331	Carnosol	Terpene		+				
25	22.61	340,270	345	5,6-Dihydroxy- 7,8,3'- trimethoxyflavone	Flavone	+					
26	23.19	340,280	359	5-Hydroxy- 6,7,8,4'- tetramethoxy flavone (Gardenin B)	Flavone	+					

Conținutul de compuși fenolici totali (TPC) în probele de plante medicinale și aromatice obținute prin culturi *in vitro* și în ghiveci, exprimat în $\mu\text{g GA/g}$ probă proaspătă

Nr. crt.	Proba	TPC plante la ghiveci	TPC plante obținute <i>in vitro</i>
1	<i>Mentha piperita</i>	444.545	373.091
2	<i>Ocimum basilicum</i>	1909.091	1954.364
3	<i>Thymus x citriodorus</i>	464.182	567.818
4	<i>Hypericum perforatum</i>	6522.000	6352.909
5	<i>Stevia rebaudiana</i>	1626.000	786.000
6	<i>Plectranthus amboinicus</i>	55.091	76.364

Conținutul de flavonoide totale (TFC) în probele de plante medicinale și aromatice obținute prin culturi *in vitro* și în ghiveci, exprimat în $\mu\text{g Q/g}$ probă proaspătă

Nr. crt.	Proba	TFC plante la ghiveci	TFC plante obținute <i>in vitro</i>
1	<i>Mentha piperita</i>	352.800	262.200
2	<i>Ocimum basilicum</i>	1643.400	1737.600
3	<i>Thymus x citriodorus</i>	58.200	52.200
4	<i>Hypericum perforatum</i>	5868.000	5841.600
5	<i>Stevia rebaudiana</i>	1470.600	720.000
6	<i>Plectranthus amboinicus</i>	10.800	17.400

Activitatea 3.5. Diseminarea rezultatelor obținute în cadrul proiectului prin publicarea de articole științifice în jurnale de specialitate, participarea la manifestări tehnico-științifice și prezentarea rezultatelor pe pagina web a proiectului (CP, P1, P2)

Publicarea/acceptarea la publicare a trei articole indexate ISI cu factor de impact și a unui articol indexat BDI (CP, P1, P2)

Participarea la patru conferințe internaționale cu prezentarea a cinci postere (CP, P1, P2)

Actualizarea paginii web a proiectului (CP)

Concluzii

- Activitățile prevăzute a fi efectuate în această etapă de execuție a proiectului au fost realizate integral, conform Planului de realizare inițial, obiectivele Fazei 3/2025 fiind îndeplinite.
- Cercetările efectuate au evidențiat faptul că, potențialul de înrădăcinare *in vitro* al speciilor *Thymus citriodorus*, *Plectranthus amboinicus*, *Stevia rebaudiana*, *Hypericum perforatum*, *Mentha piperita* și *Ocimum* sp. a fost influențat atât de compoziția mediului de cultură (în special de tipul și concentrația de auxină), cât și de specie/soi.
- De asemenea, randamentul în ceea ce privește acomodarea la condiții *ex vitro* a vitroplantelor a fost diferit în funcție de specie/soi și de metoda de aclimatizare.
- În cazul tuturor speciilor luate în studiu, analizele moleculare au confirmat fidelitatea genetică a vitroplantelor față de plantele mamă.
- În urma analizelor chimice efectuate, în cele 6 plante medicinale cultivate *in vitro* și ghiveci s-au identificat 26 de compuși fenolici din subclasele: acizi hidroxicinamici (5), flavonoli (5), flavone (10), floroglucinoli (4) și terpene (2). Conținutul de compuși fenolici totali (TPC) și conținutul de flavonoide totale (TFC) a fost diferit în funcție de specie și de proveniența materialului biologic analizat (plante cultivate în ghiveci și plante *in vitro*).