

5. Moinele generează reducerea proceselor de oxidoreducere și rezistenței plantelor la ger. Ele provoacă reducerea considerabilă a activității inhibitorilor de creștere.

Bibliografie

1. Меняйло Л.Н., Мокридова С.А. Физиологическая активность некоторых фенольных соединений сосны обыкновенной // Изучение природы лесов Сибири. Красноярск, 1972. С. 102 – 106.
2. Меняйлов Л.Н., Шульгина Г.Г. Фоторегуляция гормонального обмена сосны обыкновенной // Физиолого – биохимические процессы у хвойных растений. Красноярск, 1978. С. 6 – 16.
3. Меняйло Л.Н. Регуляторы роста и гистогенез ксилемы сосны обыкновенной // Материалы Всесоюзной конференции по анатомии растений. Л., 1984. С. 101 – 102.
4. Negru P. și col. Эколого – физиологические механизмы зимостойкости винограда, Кишинев, «Штиинца», 1988, с. 171.
5. Потапенко Я.И. Улучшение среды и свойств растений. Ростов, 1962, с. 331.
6. Туманов И.И. Физиология закаливания и морозостойкости кисти растений. М., 1979, 329 с.
7. Почосян К.С. Физиологические особенности виноградного растения. Ереван, 1979, с. 198.
8. Самыгин Г.А. Причины вымерзания растений. М., 1974, с. 190.
9. Меняйло Л.Н., Шульгина Г.Г. Фотопериодизм эндогенные регуляторы роста сосны // Обмен веществ и продуктивность хвойных. Новосибирск. 1977. С. 144 – 153.
10. Мецлер Д. Биохимия, т.2., М, Мир, 1980, 606 с..
11. Марутян С.А. Биохимические аспекты формирования и диагностики морозоустойчивости виноградного растения. Ереван, 1978. с.190.
12. А. Ермаков и др. Методы биохимического исследования растений. Ленинград «Колос», 1987, 360 с.
13. Кефели В.И. Природные ингибиторы роста и фитогормоны. М. «Наука», 1987 241 с.
14. Черноморец М.В. Устойчивость виноградного растения к низким температурам, Кишинев, 1985, с. 178.
15. Левит Т.Е., Кирилов А.Ф., Козмик Р.А. Метаболизм виноградной лозы в условиях закаливания. Кишинев, «Штиинца», 1989, 242 с.

INVESTIGAȚII ULTRASTRUCTURALE COMPARATIVE ALE BIOMASEI FRUTIERE *IN VITRO* ȘI A FRUCTULUI *IN VIVO* DE *ARONIA MELANOCARPA* (MICHX.) ELLIOT

Calalb Tatiana

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

Introducere

Fructele de aronie, grație conținutului de compuși fenolici, sunt cunoscute ca produse medicinale cu valoroase virtuți terapeutice: acțiune P-vitaminică, hipotensivă, antioxidantă [2, 23] chimiopreventivă [33], antiinflamatoare [21], antiarterosclerotică, gastroprotectoare, antimutagenică [12, 15, 18] etc.

Astăzi fructele de aronie, datorită fenolilor cu acțiune antioxidantă, sunt solicitate pe piață și ca produs comercial dietetic, sănătos în profilaxia organismului și promovarea modului sănătos de viață [15].

Deși planta nu este o cultură problematică, totuși colectarea fructelor calitative și în proporții nu întotdeauna este posibilă din diferite motive simțite în ultimile decenii:

factorii climaterici; cataclismele naturale; consecințele crizei ecologice; tehnologiile agricole tradiționale anevoioase; dificultățile colectării manuale, transportării și păstrării fructelor etc.

Înlăturarea acestor impedimente poate fi realizată prin aplicarea microtehnichilor de culturi in vitro cu evidente avantaje față de cele in vivo ca: independența de factorii ecologico-climaterici și rotația sezonieră; posibilitatea dirijării factorilor fizici și chimici; producerea în proporții, flux continuu și condiții ecologic controlate; vectorizarea direcției metabolice și dirijarea acumulării metaboliților utili etc.

În experimentele biotehnologice axate pe aronie [6, 7] au fost determinate condițiile optime biologice, fizice și chimice pentru inițierea calusogenezei și acumularea biomasei, bogată în compuși fenolici. Este necesară evaluarea ultrastructurii biomaselor pentru determinarea caracteristicilor submicroscopice ca suport structural al valorilor chimice calitative ale celulelor calusale, necesare pentru elaborarea modelului biotehnologic de producere a metaboliților secundari de natură fenolică.

În ultimul timp studiile submicroscopice in vivo și in vitro au c-am dispărut din peisajul investigațiilor științifice, și totuși, investigațiile în acest domeniu sunt necesare și binevenite, constituind o parte esențială și complimentară a complexului științific de elucidare a mecanismelor de comportare și evoluare ale celulelor în culturi in vitro, comparativ cu cele in vivo.

Materiale și metode

În calitate de obiecte pentru cercetare au servit fructele de aronie imature (50 zile după legare) și biomaselor calusale pigmentate generate in vitro din exocarpu fructelor pe medii nutritive Murashighe Skoog suplimentate cu diferite variante hormonale [6, 7]. Pentru studiul submicroscopic biomaterialele au fost fixate conform metodicilor clasice și cercetate în microscopul electronic Tesla BS500. Scoaterea în evidență a compușilor fenolici și împiedicarea redistribuirii lor a fost posibilă prin aplicarea metodei specifice de fixare a biomaterialului [19].

Rezultate

Organizarea submicroscopică a celulelor pericarpului de aronie

Pericarpul fructelor imature de aronie este reprezentat prin celule parenchimatiche cu o singură vacuolă centrală, un singur nucleu sferic și un nucleol bine structurizat și evidențiat, iar citoplasmă bogată în diferite organite. Sunt numeroși ribozomi, dispersați uniform în hialoplasmă. Mitocondriile au formă sferică, mai rar alungită cu stromă densă și criste bine conturate. Aparatul Golgi este reprezentat prin saculi aplatisați, alungiți și vezicule sferice, mici distale. Reticulul endoplasmatic atât neted cât și rugos, ultimul predomină, traversează citoplasma cu o orientare paralelă anvelopei celulare. Plastidomul este reprezentat prin cloroplaste de formă lenticulară, ovală sau ușor elongată cu membranele fotosintetice organizate în sistem tilacoidal-granar și un număr redus de incluziuni amidonice, lipidice și fenolice (tab. 1, fig. 1A). Acumulările fenolice se întâlnesc în plastide, reticul endoplasmic, pe plasmalemă, între microfibrilele anvelopei, în vacuole fiind foarte polimorfe.

Tabelul 1. Date morfometrice privind organizarea structurală a plastidelor celulelor calusale și a celulelor pericarpului de aronie

Specimenul analizat	Numărul						
	Plastide /celulă	Grane /plastidă	Tilacoide /grană	Icluziuni			
				amilacee /plastidă	fenolice/ plastidă	lipidice/ plastidă	proteice/ plastidă
Pericarpul fructului de aronie imatur	14,4	15,8	4,5	2,1	3,8	2,8	0,0
Biomasa verde	13,6	16,4	4,8	2,6	4,4	2,9	0,0
Biomasa crem-albă	10,1	5,8	2,0	7,1	4,1	9,5	2,8
Biomasa crem-roz	11,1	7,6	2,6	5,2	4,0	7,1	1,3
Biomasa violacee	11,9	8,8	3,2	3,4	4,4	5,6	1,9

Organizarea structurală a celulelor biomaselor carpocalusale de aronie

În biomaselor pigmentate s-au înregistrat 2 tipuri de celule: unele meristematice cu localizare marginală la contact cu mediul și altele – parenchimatice, care predomină și reprezintă restul biomasei.

Biomasele pigmentate este caracteristic acelaș plan de organizare submicroscopică a celulelor, asemănător celulelor pericarpului imatur de aronie. Deși, tabloul submicroscopic este similar, totuși se menționează o diversificare a organizației structurale în celulele calusale față de cele ale fructului in vivo, care corelează cu pigmentată biomasei.

Celulele calusale au citoplasma redusă cantitativ. Se observă o singură vacuolă mare, dar frecvent un vacuom multivacuolar, din 3-7 vacuole mai mici. Plastidele sunt heterogene, dar totuși, se conturează o specializare structural-funcțională ce corelează cu apartenența la tipul biomasei pigmentate.

În calusul verde sunt cloroplaste, asemănătoare celulelor pericarpului imatur de aronie, cu mici deosebiri (tabelul 1, fig. 1B), ce-l determină ca unul asimilator.

În biomasa violacee plastidele au un grad moderat de dezvoltare al sistemului tilacoidal, cedând față de cele din calusul verde și fructul de aronie (tab. 1). Ele variază după organizarea structurală a membranelor tilacoidale, forma, natura chimică și numărul incluziunilor. Cele fenolice sunt în spațiile intratilacoidale ale plastidelor tinere (fig.1C) și ca incluziuni ovale în stroma plastidelor mature. Acestea constituie o dificultate în încadrarea plastidelor într-o tipologie strictă, reprezentând forme intermediare: amilocloroplaste, taninocloroplaste, cromocloroplaste etc.

În biomasa crem-albă și -roz plastidele sunt în formă de cupă cu sistem tilacoidal redus, dar incluziuni din abundență (tabelul 1). În biomasa crem-albă sunt amiloplaste ce o determină drept una de depozitare. Deosebim plastide cu: 2-3 granule amilacee, care ocupă 1/3 din aria secțiunii; 2 granule mari (fig.1D), care ocupă toată aria; 4-6 granule de formă diferită, grupate la un pol al plastidei sau lateral. Mai sunt prezente incluziuni fenolice, lipidice și proteice (fig. 1E).

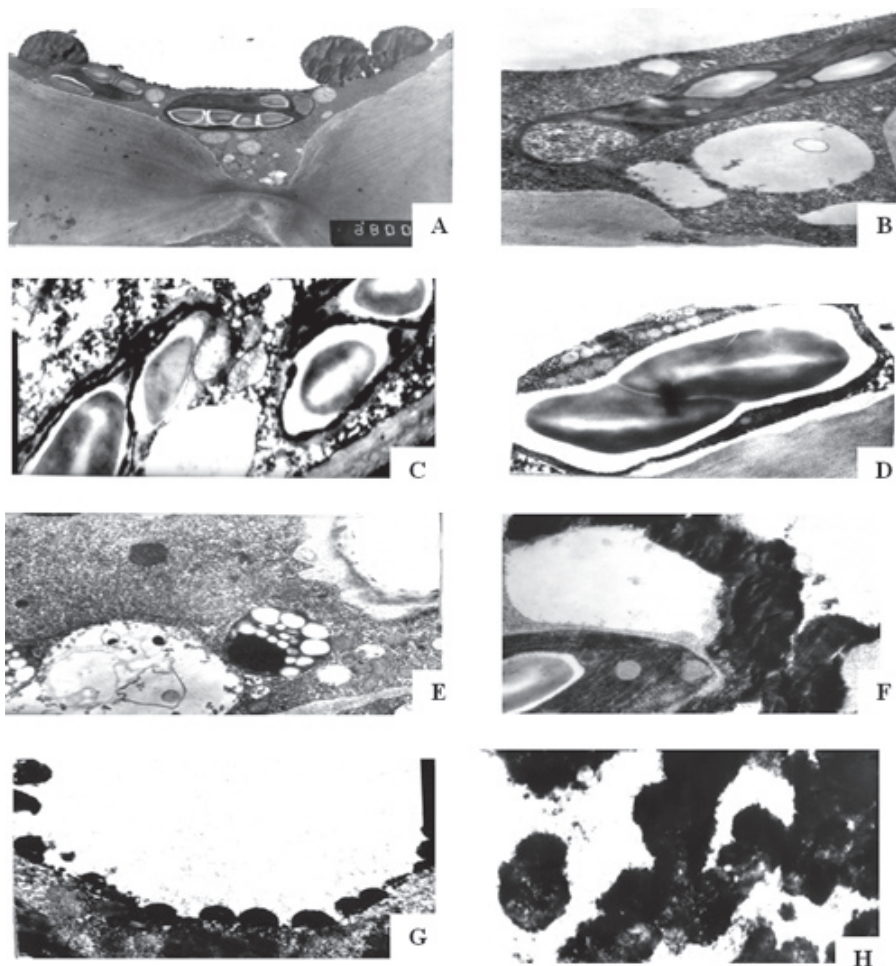


Fig.1. Imagini electronmicroscopice ale celulelor fructelor de aronie și carpomaselor pigmentate:

A – fragment a celulei pericarpului de aronie; B – cloroplast în formă de cupă în calusul verde; C – acumulări fenolice intratilacoidale în calusul violaceu; D – amiloplast în calusul crem-alb; E – incluziuni proteice în calusul crem-roz; F,G,H – depuneri fenolice în calusul violaceu; I – vezicularea citoplasmei și J – corpuri mielinice concentrice în calusul violaceu.

Acumulările fenolice se observă și în alte organite citoplasmatic. Vizualizarea submicroscopică permite doar obținerea imaginii statice a fenolilor, care nu întotdeauna reflectă realitatea, deaceia aceasta rămâne a fi o dificultate cu referință la studiul fenolilor din vacuole, ele fiind sisteme dinamice și sensibile la diferiți factori [24]. O altă dificultate în localizarea exactă a fenolilor derivă din proprietățile fizico-chimice, care nu permit fixarea lor rapidă de structurile aderente, astfel compușii fenolici pot ușor percola din vacuole în ariile citoplasmatic. Aplicarea tehnicii citochimice [19] de condensare și precipitare rapidă a fenolilor cu cafeină de 0,5% împiedică redistribuirea lor.

În biomasa verde incluziunile fenolice atestă în cloroplaste, pe tonoplast sub formă de fâșii, de semisferă, înșirate pe tonoplast sau sferică în lumenul vacuolar.

Celulele calusale violacee sunt marcate de prezența acumulărilor fenolice din abundență, fiind o caracteristică dominantă ale acestora. Sunt heteromorfe și au localizare preponderent vacuolară: fâșii neregulate subțiri sau groase și neîntrerupte pe tonoplast (fig. 1F), uneori marginal cu niște excrescențe sferice; semisferice pe tonoplast (fig. 1G); sferice sau aglomerări neregulate (fig. 1H), aforme dispesate în lumenul vacuolar sau total umple lumenul vacuolar, transformându-le în depozite fenolice. Ele mai atestă în: lumenul profilelor reticulului endoplasmic; veziculele ce detașează de reticul; în veziculele golgiene și vezicule de altă genă; pe plasmalema și anvelopa celulară.

În genere, biomasele calusale prezintă unele curiozități în comparație cu celulele pericarpului de aronie. Se atestă nuclee și plastide atipice, în formă de cupă, elongate cu invaginări (fig. 1B,E). Sunt zone citoplasmice cu aglomerări de organite și contacte stabilite între aceleași sau între diferite organite. Mitocondriile pot fi gigante, cu strangulații. Se menționează: vezicularea abundentă și rarefierea citoplasmei (fig. 1I); corpuri mielinice (fig. 1J); agregate multiveziculare; acumulări lipidice, amilacee, fenolice, proteice.

Se observă un anumit asincronism în dezvoltarea morfo-funcțională a celulelor. În biomasa verde și violacee organitele mature au o microstructura integră, doar sporadic se menționează dezorganizarea incipientă a organitelor. Dar în unele celulele crem-albe și crem-roz se atestă procese accelerate de dezorganizare și de destrucție a organitelor. Decelarea plastidelor are loc prin: umflarea tilacoizilor; dezorganizarea granelor; fragmentarea membranelor; vezicularea stromei, care conduc la pierderea integrității lor. Sunt și celule lipsite de conținut, doar cu unele formațiuni sferice delimitate de membrane, plasmalema pliată, în unele celule anvelopa celulară este sinuată și formează pliuri în formă de laț.

Discuții și concluzii

Este cunoscut că [25, 29] biomasa non-morfogenică reprezintă un sistem de celule mai sincronizate din punct de vedere structural-funcțional decât cea morfogenică. La compararea ultrastructurii celulelor de aronie *in vivo* și a biomasei non-morfogenice *in vitro*, în ultimul se atestă un asincronism structural-funcțional. Studiul comparativ ale acestora demonstrează prezența unui plan de organizare structural asemănător, dar condițiile de cultură *in vitro* favorizează dezvoltarea ultrastructurilor modificate față de celulele *in vivo*. Tabloul submicroscopic modificat al celulelor calusale poate fi exprimat printr-un întreg complex de indicii ultrastructurali cum ar fi:

- prezența organitelor polimorfe și frecvent de formă atipică: nucleu, plastide și mitocondrii în formă de cupă, elongate, cu invaginări, strangulații, gigante etc.;
- reactivitatea plastidelor printr-un diapazon larg de modificări infrastructurale;
- prezența unui sistem multivacuolar și formarea agregatelor multiveziculare;
- vezicularea sporită de diferită genă a citoplasmei;
- prezența corpurilor concentrice mielinice;
- polimorfismul, topografia diversă și abundența incluziunilor de natură fenolică, amilacee, lipidică, proteică, ultima fiind atestată doar în celulele calusale;
- dezorganizarea și destrucția avansată a microstructurii interne a organitelor, în special al plastidelor.

Acești indicii demonstrează existența unei sensibilități a organelor celulare în condițiile *in vitro*, iar gradul de manifestare al acestora corelează cu balanța hormonală adiționată mediului nutritiv, fapt remarcat și în alte studii [11, 17, 29]. Polimorfismul organelor este o caracteristică marcantă a celulelor calusale, exprimând o modalitate de restructurare microscopică în adaptarea la condițiile *in vitro*. Plastidele s-au dovedit a fi cele mai sensibile organe, adaptându-se printr-un spectru larg de transformări intraplastidiale, care corelează cu gradul de dezvoltare și modul de împachetare a sistemul tilacoidal-granar cât și forma, numărul și natura chimică a incluziunilor stromatice. Prezența incluziunilor amidice, lipidice, proteice, fenolice este o caracteristică a calusurilor embriogenice [10, 31] cât și a celor non-embriogenice [11, 26, 30]. Acumulările proteice atestate doar în biomasele crem-albă, crem-roz și violacee, exprimă o reacție specifică de adaptare la condițiile concrete de dezvoltare, deoarece ele lipsesc în cea verde și nu sunt întâlnite în celulele fructelor de aronie *in vivo*.

Conform studiului fitochimic maximul de acumulare al compușilor fenolici revine biomasei violacee [8]. Abundența și spectrul larg de localizare al incluziunilor fenolice pe imaginile electronomicroscopice reprezintă un suport structural al potențialului fenolic, format prin includerea selectivă a organelor implicate în biosinteza și acumularea fenolică, iar centrele de acumulare se asociază cu diferite structuri membranare. [7]. Depozitele fenolice pe plasmalemă, tonoplast, pe membranele plastidelor celulelor calusale corelează cu locul subcelular de biosinteză a compușilor fenilpropanici [9], clasă de compuși fenolici prezentă în cantități impunătoare în toate biomasele pigmentate [8].

Reșind din particularitățile antioxidante ale fenolilor [27], localizarea lor pe membrane constituie un avantaj, deoarece asigură o protecție a fosfolipidelor bistratificate împotriva peroxidării lipice sub acțiunea radicalilor liberi [35], astfel păstrând integritatea structurilor necesară pentru activitatea metabolică a celulei. Acumulările fenolice pe membranele plasmatică și anvelope formează o barieră protectoare la acțiunea presiunilor mecanice [14], factorilor stresanți ai mediului, infecțiilor patogene și posibil, necesară la stabilirea unui contact între celulă și mediul exterior [36, 37].

Numărul, dimensiunile vacuolelor și gradul de vacuolizare al celulei sunt indicii foarte informativi. Celulele cu o vacuolă sunt obișnuite pentru calusurile non-embriogenice [30] cât și prezența în aceiaș masă calusală a celulelor cu diferit grad de vacuolizare și număr de vacuole [22]. Celulele cu vacuole multe, dar mici, greu deshidratează [25] și mai ușor se adaptează la condițiile mediului [34]. Deci, predominarea sistemului multivacuolar față de cel alcătuit dintr-o singură vacuolă mare reprezintă un indicator al rezistenței celulei și un avantaj pentru biomasele calusale.

Majoritatea modificărilor structurale din biomasele *in vitro* sunt similare celor determinate de acțiunea unor factori nefavorabili asupra celulei. Plasmalemă pliată, corpuri paramurale și mielinice concentrice, agregate multiveziculare atestate în celulele biomasele pigmentate de aronie au fost descrise și în celulele scoarței de dud în perioada rece a anului [20], în celulele frunzei de nap, supuse temperaturilor joase [34], fiind reacții structurale de adaptare pentru sporirea rezistenței. Transformările membranare menționate, stau la baza mecanismelor de adaptare structurală ale plantelor de măr la schimbările microclimei terenurilor versante [5]. Lipsa acestor structuri membranare în

unele celule calusale poate fi explicată și prin posibilitatea reciclării lor, fapt descris și în alte experimente [28, 34].

Deși mult timp vezicularea citoplasmei, corpurile paramurale și mielinice au fost descrise ca artefacte, studiile minițuoase au demonstrat că ele reprezintă derivate ale plasmalemei - plasmalemosome [16] sau ale unor organite citoplasmatică – lomasome [1]. Indiferent de geneză, lor li se atribuie rol deosebit în transportul precursorilor, enzimelor și substanțelor elaborate de protoplast în afara lui [13]. Structurile membranare, contactul organelor și vezicularea în vecinătatea lor demonstrează existența unui transport accelerat, ce asigură desfășurarea proceselor metabolice intense în biomasele de aronie.

Este important vectorul de mișcare al veziculelor. În celulele calusale deosebim două vectorizări: în interiorul și spre exteriorul celulei, ultimul fiind recunoscut ca mural [4, 17]. Fluxul în interiorul celulei se poate realiza via formațiunilor multiveziculare spre sistemul vacuolar și via veziculelor golgiene spre sistemul endomembranar [33]. Mișcarea veziculelor golgiene și a formațiunilor multiveziculare se realizează prin proteinele-motore angrenate în microtubuli și microfilamente [3,17]. Fluxul vezicular spre sistemul vacuolar contribuie la lărgirea acestuia și explică fenomenul de vacuolizare a celulelor, iar spre alte organite – denotă prezența unei translocări metabolice intense. Vectorul mural se realizează prin vacuolele mari, veziculele golgiene și celor detașate de la canalele reticulului endoplasmic, care ajungând la plasmalemă expulzează conținutul cu precursori celulozici în afara celulei, contribuind la formarea peretelui pecto-celulozic, iar în cazul conținutului bogat în materii non-celulozice, sintetizate de diferite organite, favorizează evacuarea lor din protoplast. Ultima reprezintă un aspect aplicativ în biotehnologie, deoarece evacuarea substanțelor sintetizate de protoplast întâlnește diferite bariere, ceea ce crează mari dificultăți în izolarea lor. Vezicularea abundentă și vectorizarea murală a fluxului vezicular în celulele calusale reprezintă un moment-chee important ce facilitează evacuarea mai ușoară și eficace a substanțelor sintetizate, inclusiv a celor de natură fenolică. Aceasta poate fi un reper structural metabolic de bază utilizat la elaborarea mecanismelor de izolare a metaboliților secundari utili din celule.

Investigațiile submicroscopice comparative ale celulelor biomasele pigmentate și ale celulelor pericarpului de aronie au pus în evidență un complex de modificări ultrastructurale, care determină un indicator al adaptabilității, vitalității, capacității de reproducere ale celulelor și al vectorizării translocării metabolice în celulele biomasele.

Bibliografie

1. Baur P, Walkinshaw C. Fine structure of tannin accumulations in callus cultures of *Pinus elliotii* (slash pine). *Canadian Journal of Botany*. 1974. 52, p. 615–19.
2. Bell D, Gochenaur K. Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin-rich extracts. *J. Appl. Physiol.* 2006, 100 (4), p. 1164-70.
3. Berger S, Liddle L, Dillard W, Wittke W, Traub P. Cytoskeleton 10 nm filaments in cells of algal Chlorophyta, Charophyta, and Crysophyta and their developmentally regulated and species-specific association with prosomes. *Protoplasma*, 2003, 221, p. 277-88.
4. Calalb T. Aspecte ultrastructurale privind biosinteza, traficul și depozitarea compușilor fenolici în carpocultură. Deponat, Nr 1515-M.98, ICȘITE, Moldova, 1998, 8 p.
5. Calalb T, Matienco B, Osadci V. Ecological aspects of apple fruit structure and ultrastructure. Chishinău, „Știința”, 1992; 50 p.

6. Calalb T. Inducerea Carpocalusului în Culturi In vitro la Aronia melanocarpa Elliot. Fiziologia și Biochimia Plantelor la Început de Mileniu. Realizări și Perspective. Mater. Cong. II., 2002, p. 217-20.
7. Calalb T. Aronia melanocarpa (Michx.) Elliot Tissue Culture In Vitro. Proceedings of the 8th National Symposium „Medicinal Plants – Present and Perspectives”, Piatra Neamț. 2003, p. 40-43.
8. Calalb T. Potențialul fenolic comparativ al maselor calusale și fructelor de aronie Aronia melanocarpa Michx. (Elliot). Revista farmaceutică, Nr.1-4, 2008, p. 23-8.
9. Dixon R, Paiva N. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. Plant Cell. 1995, 7, p. 243-55.
10. Crouch M. Non-zigotic embryos of Brassica napus L. contain embryo specific storage proteins. Planta. 1982, 156, p. 520-24.
11. Fortes A, Pais M. Organogenesis from internode-derived nodules of Humulus lupulus var. Nugget. Histological studies and changes in the starch content. Amer. J. of Bot.. 2000, 87, p. 971-79.
12. Gasirowski K, Szyba K, Brokos B, Kolaczynska B, Jankowiak-Wlodarczyk M., Oszmianski J. Antimutagenic Activity of Anthocyanins Isolated from Aronia melanocarpa Fruit. Cancer Lett.1997, 119, p. 37-46.
13. Herman E, Larrins B. Protein storage bodies and vacuoles. Plant Cell. 1999, 11. p.601-13.
14. Hyodo H, Yang S. Ethylene-enhanced synthesis of phenylalanine ammonia-lyase in pea seedling. Plant Physiology 1971. 47, p. 765-70.
15. Lila M.A. Anthocyanins and Human Health. An In Vitro Investigative Approach. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2004, 5, p. 306-13.
16. Marchant R, Robards AW. Membrane system associated with the plasmalemma of plant cells. Annals of Botany.1968. 32, p. 457–71.
17. Matienco B, Brezeanu A, Maximova E, Marinescu M, Cogălniceanu G. Carpculture in vitro. Non-morphogenic pathway. Chishinău, „Știința”, 2004; 130 p.
18. Matsumoto M., Hara H., Chiji H., Kasai T. Gastroprotective Effect of Red Pigments in Black Chokeberry fruit (Aronia melanocarpa Elliot) on Acute Gastric Hemorrhagic Lesions in Rats. J. Agric Food Chem. 2004, 52, p. 2226-29.
19. Mueller WC, Greenwood AD. The ultrastructure of phenolic-storing cells fixed with caffeine. J. Exp.Bot. 1978, 29, 3, p. 757-764.
20. Niki T, Sakai A. Ultrastructural changes related to frost hardiness in the cortical parenchyma cells from mulberry twigs. Plant Cell Physiology 1981, 22, p. 171–83.
21. Ohgami K, Ilieva I, Shiratori K, Koyama Y, Jin X-H. Anti-inflammatory Effects of aronia Extract on Rat Endotoxin-Induced Uveitis. Investigative ophthalmology and Visual Science – 2005, 46, p. 275-281.
22. Onay A. Histology of somatic embryogenesis in cultured leaf explants of pistachio Pistacia vera L. Turk. J. Bot. 2000, p. 91-95.
23. Oszmianski J, Wojdylo A. Aronia melanocarpa phenolics and their antioxidant activity. European Food Research and Technology. 2005. 221, 6, p. 809-13.
24. Paris N, Stanley C, Jones R, Rogers J. Plant cells contain two functionally distinct vacuolar compartments. Cell.1995, 85, p. 563–72.
25. Pearce RS, Houlston CE, Atherton KM, Rixon JE, Harrison P, Hughes MA, Dunn MA. Localization of expression of three cold-inducible genes, blt101, blt4.9 and blt14, in different tissues of the crown and developing leaves of cold-acclimated cultivated barley. Plant Physiology. 1998. 117, p. 787–795.
26. Poljuha D., Balen b., Bauer A., Krsnik-Pasol M. Morphology and ultrastructure of Mammillaria gracillis (Cacataceae) in vitro culture. Plant cell, Tissue and Organ Culture, 2003, vol. 75, 2, p. 117-23.
27. Rice-Evans C. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. Free Radical Research. 1995. 22 (4), p. 3785-93.
28. Ristic Z, Ashworth E. Changes in leaf ultrastructure and carbohydrates in Arabidopsis thaliana L. (Heyn) cv. Columbia during rapid cold acclimation. Protoplasma.1993. 172, p. 111–123.
29. Rummyantseva N, Valyeva A, Samochvalova N, Muchitov A, Ageieva M, Lozovaya V. Peculiarities of lignification of cell walls of backwheat calli with different morphogenetic ability. Tsitologiya (in Russian), 1998, 40, p. 835-843.
30. Sane D, Aberlenc-Bertossi Y, Trouslot M, Duval Y, Borgel A. Histological analysis of callusogenesis and somatic embryogenesis from cell suspensions of date palm Phoenix dactylifera. Annals of Bot. 2006, vol. 98 (2), p. 308-311.

31. Schwendiman J, Pannetier C, Michaux-Ferriere N. Histology of somatic embryogenesis from leaf explants of the oil palm *Elaeis guineensis*. *Annals of Botany*, 1988, 62, p. 43-52.
32. Sueiro L., Yousef G.G., Seigler D., De Mejia E. G., Grace M.H., Lila M.A. Chemopreventive Potential of Flavonoid Extracts From Plantation-bred and Wild *Aronia melanocarpa* (black chokeberry) fruits. *J. of Food Science*. 2006, 71, 8, p. 480-488.
33. Steer M. N. Plasma membrane turnover in plant cells. *J. of Exp. Bot.* Vol. 39, 2005, 1988, p. 987-96.
34. Stefanowska M., Kuras M., Kacperska A. Low Temperature-induced modifications in cell ultrastructure and localization of phenolics in winter oilseed rape (*Brassica napus* L., var. *oleifera* L leaves). *Annals of Bot.* 90, 5, 2002, p.637-645.
35. Terao J, Piskua M, Yao Q. Protective effect of epicatechin, epicatecin gallate and quercetin on lipid peroxidation in phospholipid bilayers. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1994. 308: 278–284.
36. Zobel A, Crelin J, Brown SA, Glowniak K. Concentration of furanocoumarins under stress conditions and their histological localization. *Acta Hortica*. 1994, 381, p.510-16
37. Zobel A, Kuras M, Tykarska T. Localization of phenolic compounds in epidermis as the first cellular barrier between the plant body and its environment. Abstracts, Joint Meeting of International Society of Chemical Ecology and Phytochemical Society of North America, Quebec, 1990, p. 40.

Articolul este prezentat de academicianul A. Jacotă

GENETICA, BIOLOGIA MOLECULARĂ ȘI AMELIORAREA

PCR ANALYSIS OF NEMATODE RESISTANCE GENE, *Mi*, IN DIFFERENT TOMATO CULTIVARS

Duca Maria, Port Angela, Croitoru Antonina, Kaloshian Isgouhi*

*Moldova State University, 60 A. Mateevici Street, MD 2009,
Chisinau, Republic of Moldova*

**University of California, Riverside, California, 92521-0124, USA*

The root-knot nematode (*Meloidogyne sp.*) is an endoparasite that is considered to be the single most damaging crop pathogen in the world [10] by causing damages to more than 3000 plant species including tomato (*Solanum lycopersicum*). On the local market there are a large variety of chemical nematicides, but their use is not the best option since farmers desire to produce organically grown tomatoes. The screening and the study of tomato cultivars resistant to the root-knot nematodes is very important for the practical use in agriculture since the Republic of Moldova is an agrarian country.

Plant resistance, mediated by specific genes, is included among the methods for biological control of pests and diseases [3, 4], which is considered one of the most significant approaches to plant health management currently and in the near future [1].

Mi is a unique characterized resistance gene, because it confers resistance against three very different organisms - root-knot nematodes, aphids [7] and whiteflies [9].