

ELEKTRA PAPAKOSTA, EFIGJENI KONGJIKA,
VALBONA SOTA, PETRIT RAMA

SHTIMI *IN VITRO* I NËNSHARTESËS SË PJESHKËS GF-677
(*PRUNUS AMYGDALUS X PRUNUS PERSICA*)



Ky publikim është mundësuar me mbështetjen financiare të AKKSHI-së. Përmbajtja e tij është përgjegjësi e autorëve dhe opinionin i shprehur në të nuk është domosdoshmërisht opinion i AKKSHI-së.

**ELEKTRA PAPAKOSTA, EFIGJENI KONGJIKA,
VALBONA SOTA, PETRIT RAMA**

**SHTIMI *IN VITRO* I NËNSHARTESËS SË
PJESHKËS GF-677
(*PRUNUS AMYGDALUS X PRUNUS PERSICA*)**

TIRANË, 2023

Miratuat nga:

Njësia Kërkimore Shkencore “Bioteknologji dhe Gjenetikë, Akademia e Shkencave e Shqipërisë

Titulli: Shtimi *in vitro* i nënshartesës së pjeshkës GF-677 (*Prunus amygdalus* x *Prunus persica*)

Autorë:

Dr. Elektra Papakosta, Qendra e Transferimit të Teknologjive Bujqësore, Vlorë
Akad. Prof. Dr. Efigjeni Kongjika, Akademia e Shkencave të Shqipërisë
Prof. Asoc. Dr. Valbona Sota, Fakulteti i Shkencave të Natyrës, Universiteti i Tiranës
Prof. Dr. Petrit Rama, Universiteti Bujqësor i Tiranës

Recensentë:

1. Prof. Dr. Magdalena Cara
2. Prof. Asoc. Dr. Bekim Gashi

Redaktor Shkencor:

Prof. Asoc. Dr. Frida Carka

Arti grafik: Autorët

ISBN: 9789928809001

© **Autorët**

Të gjitha të drejtat janë të rezervuara. Nuk lejohet shumëfishimi me çdo mjet apo formë tjetër pa lejen e autorit.

Shtëpia Botuese
“Akademia e Shkencave e Shqipërisë”

PËRMBAJTJA E LËNDËS

PARATHËNIE	9
HYRJE	11
 KAPITULLI 1	 15
HISTORIKU I KULTIVIMIT DHE SHTIMIT TË SPECIES GF-677	15
1.1. Historiku dhe përhapja	15
1.2. Karakteristikat e species në studim.....	16
1.3. Mënyrat e shtimit të species	17
1.4. Nënshartesat e pjeshkës.....	18
1.4.1. Nënshartesat vegjetative të pjeshkës	18
1.4.2. Nënshartesat farore të prejardhura nga fara	19
1.5. Të dhëna për nënshartesën e pjeshkës GF-677.....	19
1.6.Shtimi me teknikat <i>in vitro</i>	20
1.7. Mikroshumimi i nënshartesës së pjeshkës GF-677 (<i>Prunus amygdalus</i> x <i>P. persica</i>)	23
1.8. Analiza statistikore e të dhënave të treguesve biometrikë	24
 KAPITULLI 2	 27
KULTIVIMI DHE SHTIMI <i>IN VITRO</i> I NËNSHARTESËS SË PJESHKËS GF-677.....	27
2.1. Ndikimi i eksplantit bimor në mikroshumimin e nënshartesës së pjeshkës GF-677.....	27
2.1.1. Materialet dhe Metodat	27
2.1.2. Rezultate dhe Diskutime	30
2.1.2.1. Efekti i agjentëve sterilizues të eksplanteve	30

2.1.2.2. Proliferimi i eksplanteve në kulturë.....	32
2.1.2.3. Potenciali rigjenerues i eksplanteve– sythe, në kultivimin <i>in vitro</i> të nënshartesës së pjeshkës GF-677	35
2.1.3. Përfundime	39
2.2. Efekti i përqendrimit të kripërave në proliferimin dhe rrënjëzimin e nënshartesës së pjeshkës GF-677	39
2.2.1. Materiali dhe Metoda	39
2.2.2. Rezultate dhe diskutime	41
2.2.2.1. Proliferimi i sytheve në terrene të ndryshme bazale	41
2.2.2.2. Subkultura në terrene të ndryshme bazale	44
2.2.2.3. Faza e rrënjëzimit.....	48
2.2.2.4. Faza e aklimatizimit.....	51
2.2.3. Përfundime	52
2.3. Efekti i modifikimit të terrenit ushqyes në rrënjëzimin e nënshartesës së pjeshkës GF- 677.....	52
2.3.1. Materiali dhe Metoda	52
2.3.2. Rezultate dhe Diskutime	53
2.3.2.1. Efekti i pektinës dhe i vlerës së pH në rigjenerimin <i>in vitro</i> të eksplanteve.....	53
2.3.2.2. Efekti i pektinës dhe vlerës së pH në rrënjëzimin e eksplanteve...	56
2.3.2.3. Faza e aklimatizimit.....	59
2.3.3. Përfundime	60
2.4. Përcaktimi i përqendrimit të citokininave dhe auksinave në rigjenerimin dhe rrënjëzimin <i>in vitro</i> të nënshartesës së pjeshkës GF-677	61
2.4.1. Materiali dhe Metoda	61
2.4.2. Rezultate dhe Diskutime	62
2.4.2.1. Përqendrimi optimal i citokininës për rigjenerimin <i>in vitro</i>	62
2.4.2.2. Faza e rrënjëzimit.....	67
2.4.3. Përfundime	70

2.5. Ndikimi stinor në mikroshumimin e nënshartesës së pjeshkës GF-677	70
2.5.1. Materiali dhe Metoda	70
2.5.2. Rezultate dhe Diskutime	71
2.5.2.1. Efekti i stinës në rigjenerimin <i>in vitro</i> të sytheve	71
2.5.2.2. Efekti i stinës në rrënjëzimin e sytheve	74
2.6. Ndikimi i faktorëve endogjenë rrënjëzues të majave të rritjes të nënshartesës së pjeshkës GF-677 me anë të bioprovës në fasulen e gjelbër (Phaseolus aureus).....	77
2.6.1. Materiali dhe Metoda	77
2.6.2. Rezultate dhe Diskutime	80
2.6.2.1. Ndikimi i stinës së përfutimit të ekstraktit nga majat rritëse të bisqeve të GF-677 në rrënjëzimin e <i>Ph. aureus</i>	80
2.6.2.2. Efekti i përqendrimit të ekstraktit të majave të rritjes në rrënjëzimin e fasules së gjelbër (<i>Ph. aureus</i>)"	81
2.6.3. Përfundime	85
2.7. Ndikimi i ekstraktit bruto në bashkëveprim me hormonet citokininë dhe auksinë në mikroshumimin e bisqeve të GF-677”	85
2.7.1. Materiali dhe Metoda	85
2.7.2. Rezultate dhe Diskutime	86
2.7.2.1. Ndikimi i ekstraktit në potencialin proliferues të sytheve të GF-677 në prani të citokininës BAP	86
2.7.2.2. Ndikimi i ekstraktit në potencialin rrënjëzues të bimëzave të GF-677 në prani të auksinës AIB	89
2.7.3. Përfundime	857
2.8. Krahاسimi i potencialit rigjenerues të GF-677 me disa nënshartesa drufrutore bërthamore në rrënjëzimin me teknika <i>in vitro</i>.....	91
2.8.1. Materiali dhe Metoda	92
2.8.2. Rezultate dhe diskutime	93
2.8.2.1. Krahاسimi i nënshartesave të ndryshme për përgjigjen proliferuese në kulturë.....	93
2.8.2.2. Subkultura e bimëzave	93

2.8.2.3. Faza e rrënjëzimit të bisqeve të nënshartësive drufrutore	96
2.8.3. Përfundime	99
2.9. Përcaktimi i afateve kohore në aklimatizimin <i>in vitro</i> të nënshartësës së pjeshkës GF-677 në përgatitjen për shartimin e bimëve dhe krijimin e fidanëve"	99
2.9.1. Materiali dhe Metoda	100
2.9.2. Rezultatet dhe Diskutime	101
2.9.3. Përfundime	108
PËRFUNDIME DHE REKOMANDIME.....	109
LITERATURA.....	111

PARATHËNIE

Përvoja shumëvjeçare profesionale në fushën e bioteknologjisë bimore të grupit të autorëve të botimit, në zbatimin e teknikave konvencionale *in vitro* për mikroshumimin e kulturave drufrutore bërthamore ka qenë një shtysë e madhe në realizimin e kësaj monografie. Laboratori *in vitro* pranë Qendrës së Transferimit të Teknologjive Bujqësore, Vlorë zbaton teknikat e mikroshumimit në shtimin e nënshartesave drufrutore bërthamore (pjeshkë, kumbull, qershi, kajsi), në respektim të protokolleve shkencore të prodhimit të materialit shumues, si kusht i domosdoshëm në zhvillimin dhe modernizimin e sektorit të frutikulturës.

Metodat e kërkimit shkencor të aplikuar në fushën e kulturave *in vitro* synojnë përmirësimin e protokolleve shkencore të mikroshumimit për çdo specie duke synuar pastërti fitosanitare me objektiv kryesor forcimin e hallkave të sistemit të certifikimit, në rikuperimin dhe pasurimin e gjermoplazmës së specieve drufrutore, si edhe në zhvillimin e fidanishteve private. Sigurimi i materialit bimor drufrutor të kategorisë "bazë" me anë të teknikave *in vitro* të shëndetësimit, me ndihmën e laboratoreve shtetërorë shkencorë duhet të shfrytëzohet në ngritjen e laboratoreve *in vitro* private me kapacitete të mëdha prodhuese të përafruara me nivelet evropiane.

Botimi pasqyron disa teknika të përmirësuara eksperimentale në optimizimin e protokolleve shkencore të mikroshumimit të nënshartesës së pjeshkës GF-677 dhe do të jetë në interes të specialistëve të fushës së bioteknologjisë bimore, biologëve, agronomëve, fermerëve, fidanrritësve, por edhe të studentëve të profilit biologjik, bioteknologjik dhe agronomik.

Dr. Elektra Papakosta, me pasion ka filluar para shumë vitesh studimin me mbrojtjen e mikrotezës për fitimin e gradës Msc. në fushën e mikroshumimit të nënshartesave të specieve frutore bërthamore me anë të kulturës *in vitro* në udhëheqjen e akad. prof. dr. Efigjeni Kongjika. Kualifikimi i saj me realizimin e doktoraturës në po këtë drejtim nën udhëheqjen e prof. dr. Petrit Rama, bëri të mundur arritjen e shumë objektivave të kërkimit edhe me karakter praktik. Të dy udhëheqësit shkencorë e kishin si detyrë të kontribuonin si bashkëautorë në realizimin e plotë të monografisë me

sugjerimet të vlefshme për të nxjerrë në pah jo vetëm vlerën e studimit nga ana teorike, por veçanërisht për sensin praktik të tij, gjë që vlen për afrimin e kërkimit me synimin madhor të kalimit në duart e specialistëve të frutikulturës.

Një kontribut të veçantë për plotësimin e vlerave të studimit ka dhënë prof. asoc. dr. Valbona Sota për ndihmesën e pakursyer dhe sugjerimet analitike në realizimin e punës së përbashkët në aplikimin e metodologjive *in vitro*, si dhe në përplotësimin e shumë aseteve shkencore themelore të punimit, diskutimin dhe ballafaqimin e rezultateve eksperimentale me ato të literaturës bashkëkohore.

Autorët falenderojnë për ndihmesën dhe kontributin e personaliteteve dhe kolegëve të institucioneve kërkimore jashtë vendit si:

-Vito Savino, Giovanna Bottalico, Antionetta Campanale, *Departamenti i Mbrojtjes së Bimëve dhe Mikrobiologjisë së Aplikuar, Universiteti i Barit "Aldo Moro", Itali;*

- Carmine Damiano, Andrea Fratarelli, *Qendra Kërkimore e Frutikulturës (CREA) Romë, Itali;*

- Maurizio Lambardi, Carla Benelli, *Instituti i Bioekonomisë, Këshilli Kombëtar i Kërkimit (CNR), Firenze, Itali;*

Një falenderim i veçantë për M.Sc. Lumturi Xhelili, *Qendra e Transferimit të Teknologjive Bujqësore, Vlorë* për ndihmesën e saj si agronome në realizimin e studimit në hallkat e rëndësishme të punës në serrë për aklimatizimin e nënshartesave të pemëve drufrutore.

Autorët

HYRJE

Mikroshumimi i nënshartesës së pjeshkës GF-677 me metodën e kultivimit *in vitro* është realizuar për herë të parë në vendin tonë që prej vitit 2003 në laboratorin *in vitro*, në ish-Institutin e Pemëtarisë, sot Qendra e Transferimit të Teknologjive Bujqësore Vlorë, me qëllim shtimin e materialit bimor drufrutorë, kryesisht pemë frutore bërthamore: pjeshkë, kumbull, kajsi, qershi etj, si edhe shtimin e nënshartesave të hardhisë.

Nënshartesat e pjeshkës si GF-677, GF-305, etj, kultivohen dhe shtohen me sukses në shumë laboratorë prodhimi tregtarë, në vende të ndryshme të botës si SHBA, Europë, Itali, Greqi, Iran etj. me teknika *in vitro*.

Nënshartesa e pjeshkës GF-677, hibrid pjeshkë-bajame (*Prunus persica* x *Prunus amygdalus*) është seleksionuar në Francë në vitin 1940 (Stylianidas *et al.*, 1988). Ka gjetur përhapje të gjerë me anë të teknikës së mikroshumimit *in vitro*, duke lejuar superimin e vështirësive të rrënjëzimit të vogël për copat (Rom & Carlson, 1987).

Tabachnik & Kester (1977) drejtuan studimet e para të mikroshumimit të nënshartesës GF-677 nga sythet apikalë. Në Itali, Zuccherelli (1979) realizoi shtimin *in vitro* të nënshartesës së pjeshkës. Marino (1985) ka realizuar studime të protokolleve të ndryshme të shumimit për nënshartesat hibride të gjinisë *Prunus*. GF-677 është nënshartesë e fuqishme (Loreti *et al.*, 1985; Maragoni *et al.*, 1985), tolerante ndaj klorozës (Syrgiannidis, 1985; Bindra, 1975), e cila shtohet me teknika *in vitro*.

Përshtatja në fushë është shumë e mirë, copat kanë ritëm rritjeje të shpejtë, aq sa në kushte pedoklimatike, mund të lejojë shartimin në muajt mars -prill dhe gusht- shtator si periudha më e përshtatshme e rekomanduar. Vendosja në tokë sjell zhvillim të shpejtë të sistemit rrënjor të degëzuar, të fortë dhe të shpërndarë mirë. Pemët e shartuara mbi këtë nënshartesë janë të fuqishme dhe produktive (Maragoni *et al.*, 1985; Minguzzi, 1989). Nënshartesa e pjeshkës GF-677 është tolerante ndaj thatësisë, ka rezistencë ndaj sëmundjeve (Rom & Carlson, 1987) dhe përputhshmëri me kultivarë të bajames dhe pjeshkës (Grassely, 1987).

Shumimi seksual i GF-677 rezulton në prodhimin e fidanëve jo uniform. Për të parandaluar këtë fenomen, është aplikuar metoda aseksuale me mikroshumim. Por në kulturë *in vitro* haset shpesh dukuria e vitrifikimit (pamje qelqore e gjetheve) që shkakton uljen e përqindjes së rrënjëzimit të bimëve (Tsipouridis & Thomidis, 2003).

Miller *et al.* (1982) kanë përdorur terrene me vitamina të ndryshme në fazën e rrënjëzimit. Kas *et al.* (2004) raportuan se (1/2MS) është terreni më i përshtatshëm në mikroshumimin e nënshartesës GF- 677. Sepahvand *et al.* (2012) kanë raportuar suksesin e efektit të mio-inozitolit dhe tiaminës në mikroshumimin e saj.

Shtimi *in vitro* i nënshartesës së pjeshkës GF-677 ka përparësi dhe rëndësi të madhe, sepse materiali bimor i prodhuar nga teknikat *in vitro*, në qoftë se niset shumimi nga bimë "mëmë" të shëndetësuar dhe të certifikuara, përbën një produkt që ka impakt në treg për sigurinë gjenetike dhe gjendjen fitosanitare. Rrjedhimisht, siguri në treg i materialit bimor të pastër nga viruset, viroidet dhe patogjenë, ruajtja e karakteristikave gjenetike dhe organo-leptike të kultivarëve ose kloneve të seleksionuar, përbën faktor me rëndësi për rikuperimin e gjermoplazmës drufrutore bërthamore.

Zbatimi i teknologjive të reja inovative *in vitro*, në shtimin e materialit bimor autokton dhe të huaj, veçanërisht nëse nisja bëhet nga material fillestar i certifikuar, përbën domosdoshmëri për vetë problematikën aktuale fitosanitare të kulturave drufrutore (pemë frutore, ulli, hardhi, agrume) në vendin tonë, me qëllimin e vetëm për të qenë furnizuesit kryesorë të fidanishteve për zhvillimin e pemëtarisë bashkëkohore dhe uniformizimin e prodhimit me standardet ndërkombëtare dhe normativat e BE-së.

Objektivat e studimit

Mikroshumimi *in vitro* i nënshartesës së pjeshkës GF-677 hibrid pjeshkë x bajame, (*Prunus persica* x *P. amygdalus*) është studim me interes shkencor dhe ekonomik në realizimin e prodhimit cilësor të fidanëve në aspektin fitosanitar me qëllim disa objektiva:

- Vlerësimi i raportit të makro-mikrokripërave në rigjenerimin e sytheve dhe rrënjëzimin e GF-677.

- Ndikimi i përqendrimit hormonal të auksinave (ANA; AIB) dhe citokininave (BAP) në rigjenerimin *in vitro* dhe rrënjëzimin e nënshartesës GF-677.
- Ndikimi i periudhës stinore në inokulimin, proliferimin dhe kapacitetin rrënjëzues të nënshartesës së pjeshkës GF-677.
- Ndikimi i faktorëve endogjenë rrënjëzues të majave të rritjes të nënshartesës GF-677 me anë të bioprovës në fasulen e gjelbër (*Phaseolus aureus*).
- Efekti i ekstraktit bruto të majave të rritjes në bashkëveprimin me citokininat (BAP) dhe auksinat (AIB) në proliferimin e sytheve të nënshartesës së pjeshkës GF-677.

KAPITULLI 1

HISTORIKU I KULTIVIMIT DHE SHTIMIT TË SPECIES GF-677

1.1. Historiku dhe përhapja

Prejardhja e pjeshkës konsiderohet nga Kina ku aktualisht ekzistojnë edhe forma të egra të saj. Përhapja e pjeshkës në Europë është nga Azia e klasifikuar si specie *Prunus persica* ose emërtimi *P. amygdalus*, nga ngjashmëria që ka me bajamen (Boffelli & Sirtori, 2004). Referuar raportit të fundit të publikuar nga Departamenti i Bujqësisë i Shteteve të Bashkuara (USAID Fresh Fruit Portal.com 2022) pritet një rritje prej 1 milion tonësh për prodhimin global të pjeshkës dhe nektarinës në sezonin e vitit 2022-2023. Rritja mund të rezultojë në prodhim prej 23.7 milion dhe vjen nga prodhuesit kryesorë në botë Kina, Bashkimi Evropian dhe Turqia.

Në vendin tonë pjeshka kultivohet në zonën bregdetare dhe Shqipërinë e mesme. Është e përhapur në zonat me klimë të ngrohtë. Pjeshka dëmtohet nga temperaturat e ulëta në -17°C për një kohë të gjatë, ndërsa temperaturat më të ulëta se -20°C dhe -22°C i duron për kohë të shkurtër. Në temperaturën -24°C bima pëson dëmtime në degë dhe sythe. Sikurse të gjitha kulturat drufrutore bërthamore, në periudhën e qetësisë vegjetative, pjeshka është rezistente ndaj minimeve termike dimërore në -30°C deri -35°C, por bëhet e ndjeshme në temperaturat -1°C deri në -2°C, nga faza e fryrjes së sytheve deri në atë të lidhjes së tyre. Qëndrueshmëria ndaj temperaturave të ulëta diferencohet sipas varieteteve, por pjeshka i reziston temperaturave të larta jo më shumë se 35°C, sepse ndikon në cilësinë dhe madhësinë e frutave (Llambro *et al.*, 2004).

Pjeshka kultivohet në zonën e hardhisë, ku gjen kushte të përshtatshme deri në lartësitë (600 m -700 m) mbi nivelin e detit dhe ka kërkesa për ujtitje. Përsa i takon parametrave të mbjelljes në tokë, më e mirë për pjeshkën konsiderohet tokë e mesme, me tendencë të shkrifët me përmbajtje 50-60% rërë, 20-30% lym, 10-20% argjil dhe 2-3% lëndë organike. Meqënëse pjeshka është e

ndjeshme ndaj asfiksisë rrënjore nga ujërat e ndenjor, nëntoka duhet të jetë e freskët, e thellë, e përshkueshme dhe e drenazhuar mirë. Tokat për kultivimin e pjeshkës duhet të jenë me ngarkesë të ulët nga nematodat (*M. javanica*; *P. Vulmus*) si edhe nga agjentë patogjenë që shkaktojnë kalbëzimet rrënjore.

Kushtet e përshtatshme klimatike - tokësore të vendit tonë, mundësojnë kultivimin me sukses të specieve drufrutore bërthamore, për kultivarë autoktonë dhe të huaja në përshtatje me mjedisin ekologjik, në garantimin e prodhimeve të frutave me cilësi të mirë. Njohja, përshkrimi dhe vlerësimi i karakteristikave kryesore vegjetative dhe tregtare, ndikon në rajonizimin e kulturave drufrutore në përshtatje me zonat ekologjike të kultivimit. Zonat e kultivimit të pjeshkës në vendin tonë janë: Tirana, Shkodra, Lushnja, Berati, Elbasani, Fieri.



Figura 1.1. Pemëtore e pjeshkës në koleksionin drufrutorë bërthamorë, Shamogjin Q.T.T.B Vlorë

1.2. Karakteristikat e species në studim

Pjeshka bën pjesë në ndarjen Prunoidae, në rendin Rosales, në familjen trëndafilore Rosaceae, në gjininë Amygdalus, në gjininë *Prunus* dhe specien *Prunus persica* (Nicotra et al., 2003). Është bimë diploide ($2n = 16$) kromozome. Ka lartësi mesatare 4-6 mm me forma të ndryshme të ndryshme të kurorës sipas kultivarëve nga bimët xhuxhe me ndërrnyje më të vogël se 1 cm deri në format më të larta 8 m. Karakterizohet nga një sistem rrënjor shumë i degëzuar dhe me shtrirje të madhe. Pjeshka është bimë vetëpllenuese, me mundësi të polenizimit të kryqëzuar me anë të insekteve, karakteristikë e

bimëve entomofile (Fideghelli, 1994; Conte *et al.*, 2004). Frutat janë të dimesioneve të ndryshme në varësi të specieve dhe kultivarëve nga 50 gr. në bimët e egra deri në 80-100 gr. në kultivarët me pjekje të hershme.

Pjeshka është bimë e zonës eukrate, preferon klimë të butë me temperaturë minimale, që nuk shkon nën 15°C dhe maksimale jo më shumë se 35°C. Kultivohet në zonat e ullirit dhe hardhisë me lartësi 700-800 m mbi nivelin e detit (Baldini & Scaramuzzi, 1981).

1.3. Mënyrat e shtimit të species

Pjeshka shtohet me shartim të kultivarit të dhënë, mbi nënshartesë farore ose mbi nënshartesë klonale (Boffelli & Sirtori, 2004). Shartimi bëhet në fund të verës në formë T dhe me sythe të fjetur. Për ngritjen e një pjeshkoreje duhet të përdoret material shumëzues i certifikuar si nënshartesa, kalema shartimi dhe bimë të shartuara, të prodhuara në përputhje me normat komunitare të BE-së për certifikimin e materialit shumëzues bimor të gjinisë *Prunus*. Shartimi i fidanëve mbi nënshartesa të mbjella në fushë duhet të bëhet me material bimor të pastër dhe të kontrolluar, që bazohet në dokumente që vërtetojnë origjinën e tyre. Shtimi i pemëve frutore realizohet si vijon:

a) Shtimi me farë (seksual) - shtimi i kulturave drufrutore me farë është i rrallë sepse filizat që ato japin janë të papërshtatshme për kultivim sepse nuk përfaqësojnë vlerat dhe cilësinë më të mirë të bimëve “mëmë” si edhe hyjnë vonë në prodhim. Ky shtim realizohet vetëm ku farërat merren nga bimë “mëmë” që përftohen nga kryqëzime prindërore të seleksionuara dhe të kontrolluara (Godini, 2001).

b) Shtimi me copa vegjetative (aseksual)- shtimi vegjetativ i pemëve drufrutore me copa vegjetative kryhet me teknikën e shumëzimit vegjetativ:

- rrënjëzimi i çdo pjese vegjetative të kurorës;
- me anë të shartimit të filizave të prodhuara nga fara me mbishartesa (sythe, kalema) të individëve të seleksionuar;
- shtimi me teknika *in vitro*, që siguron prodhim të lartë bimëzash identike me bimën mëmë për një kohë mjaft të shkurtër

1.4. Nënshartesat e pjeshkës

Për shtimin e nënshartesave të pjeshkës me karakteristika të mira bio-agronomike prej kohësh përdoren gjerësisht dhe kanë përparësi teknikat e shtimit *in vitro* në shumë vende të botës (Maghaddam & Yadollahi, 2012) si edhe në vendin tonë (Spahiu, 2006). Shtimi i nënshartesave të kulturave drufrutore konsiston në kontrollin e zhvillimit vegjetativ dhe riprodhues të bimëve me qëllim rritjen e rezistencës ndaj stresit biotik dhe abiotik. Nënshartesat janë disa llojesh: të egra, gjysëm të egra dhe të kultivuara. Sipas fuqisë së rritjes janë: me rritje të fuqishme, mesatare dhe të dobëta. Nënshartesat duhet të plotësojnë disa kritere: të shtohen lehtësisht; të kenë afinitet me mbishartesat (sythe, kalema); ti përshtaten kushteve klimatiko-tokësore të zonës së kultivimit. Zgjedhja e nënshartesave të përshtatshme (Spahiu, 2015) është e rëndësishme për ngritjen e një pemëtarie moderne, duke garantuar unifikimin e prodhimit të kulturave drufrutore me normat komunitare europiane.

1.4.1. Nënshartesat vegjetative të pjeshkës

Pengese 1 (Hibrid i *P. davidiana* x *P. persica*) - Rezistente ndaj nematodave në toka të asfiksuara, i përshtatshëm për mbjellje në toka të vjetra. Jep rezultate të mira në rritje dhe ngjyrën e frutave (Pisani & Roselli, 1983).

Cadaman Avimag (*P. persica* x *P. davidiana*) - Pema ka rritje të mirë. Përshtatet mirë në toka të freskëta, të varfëra dhe në toka të asfiksuara. Shkakton pjekjen e hershme, rrit madhësinë dhe ngjyrimin e frutave. Ka rezistencë ndaj nematodave (Edin & Garcin, 1994).

GxN 15 Garnem - Nënshartesë rezistente ndaj nematodave *Meloidogyne*, e përshtatshme në toka të freskëta dhe të drenazuara mirë, rezistente ndaj klorozës, ka fuqi superiore ndaj GF-677 (Tabakov *et al.*, 2018).

GF-677 hibrid (*Prunus. persica* x *P. amygdalus*) - E përshtatshme në toka gëlqerore, jo të ujitura, të thata dhe kodrinore. I ndjeshëm ndaj *Agrobacterium*. Ka produktivitet të mirë (Garoosi *et al.*, 2010).

Ishtara[®] Ferciana (*P. cerasifera* x *P. persica*) - Përshtatet mirë në toka të freskëta dhe të rënda. Pema ka zhvillim të mirë, prodhon fruta të hershme me madhësi dhe rendiment të lartë (Cricca, 2010).

1.4.2. Nënshartesat farore të prejardhura nga fara

Nënshartesat e prejardhura nga pjeshka farore sigurohen nga kultivarë të cilët japin bimë heterogjene. Pjeshka farore ka 60-80 % aftësi mbirëse në toka pjellore, të kulluara dhe të freskëta. Kanë fuqi rritje të mirë dhe hershmëri në prodhim (Godini, 2001). Kanë afinitet të mirë me mbishartesat, nuk durojnë lagështi të madhe dhe temperatura të ulëta, janë problematike në rimbjellje, durojnë CaCO_3 deri në 4%, janë të ndjeshme ndaj nematodave *Meloidogyne* dhe *Pratylenchus*.

Nemaquard (*P. persica* x *P. davidiana*) - Rezistente ndaj nematodave, e ndjeshme ndaj kancerit bakterial. Jep pemë të fuqishme (Zhao *et al.*, 2010).

GF-305 - Jep pemë të fuqishme dhe uniforme. Farat e saj dallohen për fuqinë mbirëse të lartë. (Çakalli & Thomai, 2005).

Montclar[®] *Chanturge* - Karakterizohet nga pemë me fuqi rritje të madhe, rrënjë të thella, përshtatet në toka të thata dhe të ajrosura mirë, ka ndjeshmëri ndaj klorozës dhe duhet shmangët niveli i pH > 7 (INRA, 1987).

Rubira[®] - Nënshartesa jep pemë të fuqishme, nuk është e qëndrueshme ndaj të ftohtit, rezistente ndaj kancerit bakterial dhe *Verticillium*, e ndjeshme ndaj nematodave dhe *Phytophthora* (Bussi *et al.*, 1995).

Siberian C. - Kultivohet në zona të ftohta, kërkon pak krasitje dhe përdorim të pakët për pesticide, janë produktive. Duron deri në -11°C dhe në toka ranore është e ndjeshme ndaj nematodave, *phytophthora* dhe *verticillium* (Joung & Reid Brenda, 1979).

1.5. Të dhëna për nënshartesën e pjeshkës GF-677

Nënshartesa GF-677 hibrid pjeshkë x bajame (*Prunus persica* x *P. amygdalus*), është seleksionuar në Francë në vitin 1940. Ka përhapje të gjerë me anë të teknikës të shtimit *in vitro* (Ahmad *et al.*, 2004).

GF-677 përdoret për mikroshumim dhe jep prodhim të mirë (Kyriakidou & Pontikis, 1983). Nuk duron lagështinë e tepërt dhe është e ndjeshme ndaj fitoftorës. Shtohet me copa dhe me kulturë *in vitro*. Përshtatja në fushë është shumë e mirë. Copat kanë rritje të shpejtë, aq sa në kushte pedoklimatike mund të lejojë shartimin në muajt mars - prill dhe gusht -shtator si periudha më e përshtatshme që rekomandohet. Vendosija në tokë sjell zhvillim të

shpejtë, me sistemin rrënjor pak të degëzuar dhe të fortë. Përsa i takon sjelljes në mjedisin pedoklimatik, GF-677 është e përshtatshme në terrene me përmbajtje gëlqerore 10-12% kalcium (Ca) aktiv. Përdoret në terrene të freskëta dhe pjellore ose të privuara nga gëlqerorët, ku nënshartesa nuk ofron garanci të mjaftueshme në toka të varfëra (Hammerschlag, 1987). Ka ndjeshmëri të lartë ndaj rrjedhjes hidrike edhe pse ka rezultate të mira në terrene kompakte dhe të drenazuara mirë.

GF-677 rezulton shumë e ndryshueshme ndaj natyrës biotike. Tregon përputhshmëri ndaj *Phytophthora*, *Stereum*, *Amelaria*. Rezultate të mira ka në cilësinë e fortësisë të dallueshme të sistemit rrënjor. Për këtë arsye tregon tolerancë në kufizimin e infeksionit ndaj *Agrobacterium*.

Duke analizuar karakteristikat e shfaqura në kultivarin e shartuar, ekzistojnë raste të mos-afritit me asnjë nga kultivarët e shumtë të shartuar. Fortësia është e lartë dhe kjo, kushtëzon hyrjen në prodhim të bimës që rezulton e vonuar në aktivitetin vegjetativ (Fideghelli, 1994).

Bimët e shartuara mbi GF-677 janë produktive. Rritja dhe zhvillimi i fuqishëm rezulton në toka pjellore në sajë të plehërimit azotik, kurse në kultivarët e hershëm kushtëzon peshën dhe ngjyrën e frutit. GF-677 përdoret kryesisht si nënshartesë për pjeshkën dhe bajamen.

Në Mesdhe, pemët frutore bërthamore zënë sipërfaqe të konsiderueshme rreth 600.000 ha, ku pjeshka është në vend të parë me rreth 320.000 ha dhe rendiment 14 ton/ha. Aktualisht në këtë rajon merret rreth 50% e prodhimit botëror të pjeshkës, 48% e kajsisë, 20% e qershisë dhe 24% e bajameve. Nisur nga ky fakt, si dhe kërkesa në rritje për fruta cilësore për këto kultura, po bëhen përpjekje për rajonizimin dhe intensifikimin e tyre (Llambro *et al.*, 2004), sidomos për material bimor të seleksionuar dhe të shëndetësuar nga disa agjentë patogjenë, me ndikim shkatërrues për bimët dhe prodhimin e tyre.

1.6. Shtimi me teknikat *in vitro*

Suksesi më i dukshëm në shtimin e pemëve drufrutore në shumë vende të botës (SHBA, Europë, Itali, Greqi, Iran etj.) është arritur me shumimin klonal *in vitro* ose mikroshumimin.

Zbatimi i teknikave *in vitro* mundëson:

- shtimin e materialit bimor të kontrolluar nga ana fitosanitare pa prani virusesh ose patogjenë të ngjashëm me to;
- realizon shtimin e materialit bimor të kontrolluar gjenetiki;
- shumimin e një numri të madh bimësh në kohë të shkurtër;
- realizon shëndetësimin e bimëve të infektuara (termoterapi *in vitro* dhe *in vivo*; kultura e majës meristematike);
- mundëson shtimin e specieve të vështira me metoda tradicionale;
- krijon uniformitet në prodhim;
- krijon banka gjenetike *in vitro* për ruajtjen e gjermoplazmës autoktone drufrutore;
- uljen e kostove të prodhimit krahasuar me teknikat tradicionale.

Në vendin tonë rreth viteve 1980, në ish- Institutin e Perime-Patates në Tiranë (Merja & Marko, 1988) u aplikua përdorimi i kulturës të meristemës së patates. Në fillim të viteve 90^{-të}, u ngritën të parët laboratorë të kulturave indore dhe qelizore në ish-Institutin e Kërkimeve Biologjike, në Universitetin Bujqësor të Tiranës. Në ish-Institutin i Kërkimeve Biologjike, Akademia e Shkencave e Shqipërisë, filloi dhe u zgjerua puna në drejtim të aplikimit të metodologjive *in vitro* për shumimin dhe konservimin e specieve bimore me rëndësi ekonomike për vendin tonë (Kongjika *et al.*, 1995; 1997). Në ditët e sotme, pas 15 vjetësh themelim Departamenti i Bioteknologjisë, Fakulteti i Shkencave të Natyrës, Universiteti i Tiranës, realizon kërkime shkencore të ndryshme nëpërmjet metodave të ndryshme bioteknologjike indore dhe qelizore në shumimin dhe përmirësimin gjenetik të bimëve si edhe ruajtjen e gjermoplazmës së specieve frutore spontane e të kultivuara, specie bimore endemike dhe të rrezikuara, etj. me metoda të ndryshme të konservimit *in vitro* (Kongjika *et al.*, 2002; Sota, 2012).

Në ish-Institutin e Pemëtarisë Vlorë, sot Qendra e Transferimit të Teknologjive Bujqësore, në vitet 2001-2002 u mundësua ngritja e laboratorit *in vitro* në bashkëpunim shkencor me Institutin Agronomik Mesdhetar (CIHEAM) Bari, Itali, në realizimin e Projektit Italo-Shqiptar, Interreg III për certifikimin e specieve drufrutore: “Prodhimi, ruajtja dhe përdorimi i

materialit bimor të certifikuar për zhvillimin e aktivitetit vivaistik të kualifikuar në Shqipëri ”.

Në kuadër të këtij Projekti u ndërtuan strukturat e Qendrës së Parashumëzimit me infrastrukturë moderne: Serrë e bimëve "mëmë", Serrë aklimatizimi, Serrë hijëzimi, Laboratori i kulturave *in vitro* me strukturat përkatëse, me objektiv kryesor shtimin e nënshartesave të pemëve bërthamore dhe të kulturave të tjera drufrutore, me material bimor të kontrolluar në aspektin gjenetik dhe fitosanitar (Fig. 1.2).



Figura 1.2. Qendra e Parashumëzimit Pus – Mezini, Vlorë **(a)** Serrë e bimëve "mëmë"; **(b)** Laboratori *in vitro*; **(c)** Dhoma vegetative e bimëve; **(d, e)** Serra e aklimatizimit *in vivo*; **(f)** Serra e hijëzimit

Laboratori *in vitro* punon në vazhdimësi për kultivimin dhe shtimin e nënshartesave të kulturave drufrutore bërthamore autoktone dhe të huaja, si edhe zbaton dhe aplikon teknika *in vitro* të shëndetësimit të bimëve të infektuara nga viruset ose viroide dhe patogjenë të ngjashëm me to.

Metodat e kërkimit shkencor të aplikuar në laboratorin *in vitro* synojnë përmirësimin e protokolleve shkencore të shtimit dhe rrënjëzimit për çdo specie duke synuar përqindje të lartë proliferimi dhe rrënjëzimi, si edhe pastërti fitosanitare në bimë. Objektivi themelor është ngritja e hallkave të sistemit të çertifikimit në vendin tonë, me qëllim zhvillimin e fidanishteve private në uniformizimin me standartet e BE-së.

1.7. Mikroshumimi i nënshartesës së pjeshkës GF-677 (*Prunus amygdalus* x *P. persica*)

Industria e hortikulturës ka zhvilluar sisteme moderne të shtimit të specieve drufrutore duke reduktuar punën e krahut që nevojitet me copa dhe me farë, duke i dhënë përparësi mënyrave të shartimit që sigurojnë bimë cilësore, rendiment të lartë dhe përshtatje më të mirë ndaj kushteve të ambientit

Prodhimi dhe shtimi i nënshartesave bëhet me qëllim kryerjen e shartimit për krijimin e kultivarëve si bashkim i një pjese bimore (mbishartesë farore ose vegjetative) mbi një bimë tjetër (nënshartesë) dhe zhvillimin e një bime të vetme me cilësi tregtare të lartë, përshtatshmëri në ambiente klimatike dhe tokësore, mosprekjen nga sëmundje dhe dëmtues të ndryshëm. Pjeshka e shartuar mbi nënshartesa kumbulle përshtatet edhe në toka të rënda dhe të lagëta, ndërsa e shartuar mbi bajame ose GF- 677, mund të kultivohet edhe në toka skeletike (Rama, 2013).

Në Itali prodhohen në vit afro 30 milion bimë të specieve të ndryshme nga laboratorët tregtarë të mikroshumimit të nënshartesave drufrutore bërthamore; GF-677, Mirabolano 29/C, Gisela 6, Cab 6, Max 14 etj. si edhe kultura drufrutore të tjera (De Paoli *et al.*, 1994).

Ndër fidanishtet me histori suksesi në Itali, në shtimin dhe prodhimin e nënshartesave drufrutore kryesisht edhe të GF 677 përmenden:

Fidanishte -Battistini Vivai (Forli-Cesena, Ravenna dhe Bolonja), që prej 70-vitesh prodhon 10 milion bimë kryesisht nënshartesa drufrutore bërthamore me teknika *in vitro*;

Fidanishte - Apice Piante, prej 35 - vitesh në fushën e mikroshumimit *in vitro* të kulturave drufrutore, prodhon 1.5 milion bimë në vit.

Sot mikroshumimi i nënshartesës GF-677 aplikohet gjerësisht në shumë vende për arsye të numrit të madh të bimëve uniforme të gatshme për fushë, që mund të prodhohen nga një eksplant i vetëm me material bimor të prejardhur nga bimë "mëmë " të certifikuara, në periudhe të shkurtër kohe pavarësisht periudhave stinore (Zuccherelli, 1979).

Në Qendrën e Transferimit të Teknologjive Bujqësore Vlorë, ka filluar puna për shtimin *in vitro* të nënshartesës GF-677 në vitin 2003 (Spahiu, 2006; 2015) edhe sot në vazhdim. Në krahasim me metodat tradicionale, mikroshumimi paraqet avantazhe të mëdha me qëllim shumëzimin e shpejtë, duke u nisur nga një eksplant, i kultivuar në terren të pasur ushqyes me kripëra, vitamina, hormone.

Studimi eksperimental është realizuar në laboratorin e kulturave *in vitro* të shtimit të kulturave drufrutore dhe kryesisht të nënshartesave bërthamore në Q.T.T.B Vlorë. Qëllimi i studimit është zgjedhja e teknikave efikase të mikroshumimit të nënshartesës së pjeshkës GF-677, me ndikim në potencialin rigjenerues të kulturave bimore indore për të arritur përqindje të lartë proliferimi dhe rrënjëzimi. Procesi i ndjekur për këtë qëllim kalon në stadet tipike të mikroshumimit (Fig. 1.3).

1.8. Analiza statistikore e të dhënave të treguesve biometrikë

Për çdo eksperiment janë monitoruar në mënyrë të vazhdueshme parametra të shumë biometrikë, si dhe përgjigje të marra pas realizimit të trajtimeve të ndryshme.

Përpunimi i të dhënave për të gjitha provat eksperimentale të realizuara, janë realizuar me Analizën e Variancës ($P < 0.05$) Testi (ANOVA). Të dhënat janë paraqitur si mesatare të shoqëruara nga gabimi standard dhe deviacioni standard. Krahasimet e mesatareve janë bërë duke përdorur testin Tukey-Kramer, që përfaqësohen me gërma që tregon variacionin (nëse ka). Analiza statistikore u realizua me programin statistikor JMP version 13.0.

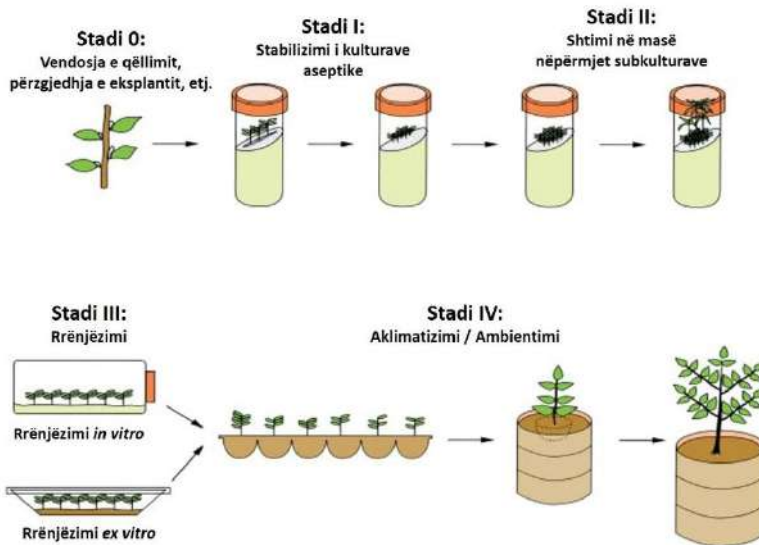


Figura 1.3. Përmbledhje skematike e stadeve të mikroshumimit (Burimi: <https://microbenotes.com/micropropagation-stages-types-applications-advantages-limitations>)

KAPITULLI 2

KULTIVIMI DHE SHTIMI *IN VITRO* I NËNSHARTESËS SË PJESHKËS GF-677

2.1. Ndikimi i eksplantit bimor në mikroshumimin e nënshartesës së pjeshkës GF-677

2.1.1. Materialet dhe Metodat

Materiali bimor i nënshartesës së pjeshkës GF-677 u mor nga bimët “mëmë” 6- vjeçare, në organe vegjetative të bimës, në Screen House ose serra e bimëve “mëmë” (Fig. 2.1), pranë Bazës së Eksperimentale të Qendrës të Transferimit të Teknologjive Bujqësore Vlorë, ku ndodhen nënshartesat e kulturave drufrutore bërthamore të certifikuara dhe të kontrolluara.

Zgjedhja e eksplanteve (mosha, pozicioni, pjesë vegjetative) ka rëndësi të madhe në suksesin e kulturës *in vitro* (Fig. 2.1.1).



Figura 2.1.1.Serra e bimëve “mëmë”e nënshartesave drufrutore bërthamore – Baza Eksperimentale, Shamogjin

➤ **Eksplantet fillestarë - sterilizimi dhe inokulimi i tyre**

Si material fillestar u morën pjesëza të vogla bimore - eksplante të nënshartesës të pjeshkës GF-677, me ndihmën e gërshërëve të dezinfektuara me alkool dhe u prenë në madhësinë e duhur. U provuan dy lloje eksplantesh fillestare:

- sythe apikalë (struktura të organizuara), nga copa gjysëm-drunore, të cilat kalojnë në organogjenezë direkte;
- copa kërcelli / inde kërcellorë 2 cm (struktura të paorganizuara), eksplante që kalojnë në rrugën e zhvillimit të organogjenezës indirekte;

➤ **Sterilizimi i eksplanteve dhe inokulimi në terrenet ushqyese**

Eksplantet u morën në degë të reja dhe inokulimi i tyre u bë në pranverë në muajt prill-maj dhe secila kategori u pre në madhësinë e duhur (Fig. 2.1.2 a). Copat e kërcellit të nënshartesës GF- 677 janë prerë me përmasa 2 cm, ndërsa sythet janë marrë nga kalemat gjysmë-drunore (5-6 cm).

Të dy kategoritë e eksplanteve u sterilizuan në bazë të protokolleve të dy agentëve sterilizues: NaOCl (hipoklorit natriumi) 0.5% dhe HgCl₂ (biklorur mërkuri) 0.03 %, në kohëzgjatje sterilizimi 20 min. Fillimisht u bë larja e copave me sapun antibakterial, shpëlarje me ujë të rrjedhshëm për 10 min, zhytje në akool etilik 70% për 10" dhe më pas trajtimi i eksplanteve me agentë sterilizues për 20 min. me qëllim eliminimin e infeksioneve me natyrë kërpudhore dhe bakteriale (Berger *et al.*, 1994).



Figura 2.1.2. (a) Izolimi i eksplanteve; (b) Inokulimi i eksplanteve

Pas sterilizimit, *copat kërcellore* u prerë për së gjati dhe u inokuluan horizontalisht mbi sipërfaqen e terrenit ushqyes. *Sythet* janë vendosur në pjata Petri dhe me ndihmën e stereomikroskopit janë izoluar sythe apikalë me përmasa (3-4 mm). Pasi u pastruan nga mbështjellat e jashtme, duke mos dëmtuar sythin, janë inokuluar në enët e kulturës. Këto procese realizohen në kushte aseptike në fluksin laminar (Fig. 2.1.2 b).

Të gjitha enët e kulturës të të dy kategorive të eksplanteve janë transferuar në dhomën vegjetative të bimëve në kushte teknike me parametra të kontrolluar ndriçimi dhe temperature.

➤ ***Terrenet ushqyese***

Për të dyja kategoritë e eksplanteve janë testuar të njëjtat përmbajtje hormonale në stadin e proliferimit të tyre, dhe u krahasua reagimi i eksplanteve në këto kushte specifike të kultivimit.

Terreni ushqyes bazë i përdorur është ai MS (Murashige & Skoog, 1962), me përmbajtje citokininë BAP 0.35 mg l^{-1} , auksinë ANA 0.01 mg l^{-1} , giberelinë GA₃ 0.1 mg l^{-1} , sakarozë 3%, agar 0.7%, pH i terrenit 5.7-5.8.

➤ ***Kushtet e kulturës***

Pas inokulimit, etiketimit me datën e kulturës, emrin dhe llojin e eksplantit, bimëzat u vendosën në dhomën vegjetative, të rritjes së bimëve në kushte optimale të kontrolluara në temperaturë 22°-24°C, fotoperidë 16 orë dritë dhe 8 orë errësirë/ 24 orë, intensiteti i ndriçimit 3500 lux, me qëllim rritjen dhe zhvillimin e bimëve me anë të subkulturave në çdo 20 ditë, në terren të freskët ushqyes me komponentë mineralë të rinovuar.

➤ ***Parmetrat e monitoruar dhe përpunimi i të dhënave***

Pas 40 ditësh të fazës së inokulimit, sythet çelin bisqet e reja, për të cilat janë realizuar matjet e treguesve biometrikë dhe janë krahasuar në lidhje me reagimin e tyre në kulturë të dy llojet e eksplanteve (sythe dhe copa kërcellore). Për këtë qëllim është vlerësuar: numri i bisqeve/ eksplant, gjatësia e bisqeve/ eksplant, numri i gjetheve të bisqeve/ eksplant.

Për secilin variant u eksperimentua në (10 vazo sterile me 4 eksplante secila x 4 përsëritje). Të dhënat janë marrë pas tre subkulturash dhe të dhënat u përpunuan statistikisht me analizën e variancës (ANOVA).

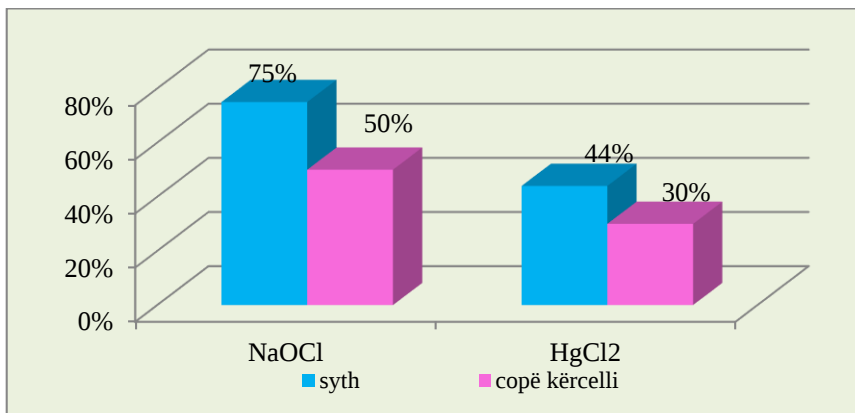
2.1.2. Rezultate dhe Diskutime

2.1.2.1. Efekti i agentëve sterilizues të eksplanteve

Një nga parimet bazë të zhvillimit të kulturave *in vitro* janë kushtet aseptike të teknikave që përdoren. Është analizuar dhe vlerësuar përqindja (%) e mbijetesës si edhe përqindja e infeksionit të eksplanteve të nënshartesës GF-677, duke u bazuar në reagimin e eksplanteve në terrenin ushqyes të inokulimit, sipas agentëve sterilizues të përdorur NaOCl 0.5% dhe HgCl₂ 0.03%.

Në bazë të të dhënave eksperimentale, konstatohet se mbijetesa e eksplanteve kushtëzohet nga lloji i agentit kimik të përdorur.

Pas katër javësh në dhomën e rritjes vegetative, eksplantet e sterilizuar me NaOCl 0.5% për 20', dhanë përqindje të lartë mbijetese 75% (Graf. 2.1.1).

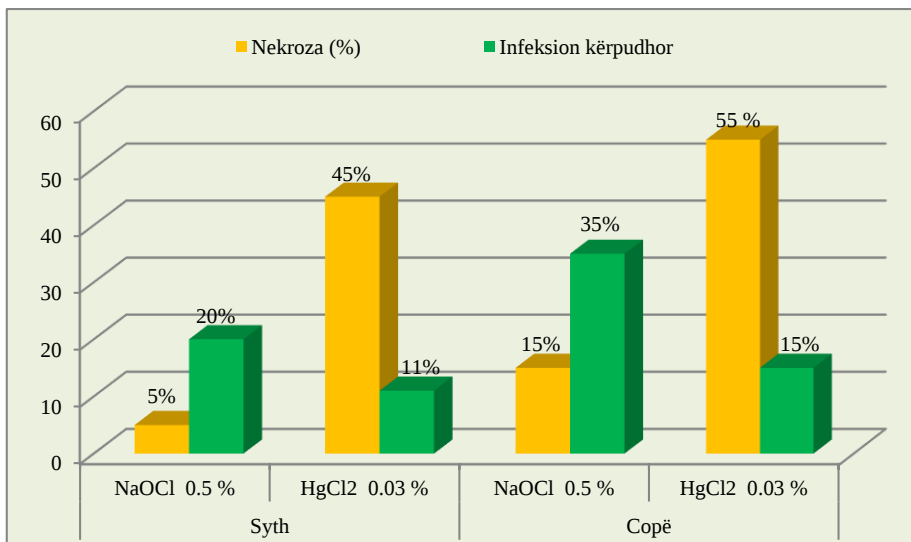


Grafiku. 2.1.1. Përqindja e mbijetesës së eksplanteve sipas veprimit të agentëve sterilizues

Pas 7-10 ditësh filluan të shfaqen gjethëzat e para, zhvillimi i sytheve u vërtetua nga dita e 22-të dhe u kompletua pas 10 ditësh. Dukurinë e nekrozës e shfaqën 5% të eksplanteve sythe. Përqindja e ndotjes rezultoi (20%), si pasojë e infeksionit kërpudhor.

Për sythet si eksplante fillestare, sterilizimi me HgCl_2 0.03% për 20', rezultoi me përqindje mbijetese më të ulët 44%. Përqindja e nekrozës ishte e lartë 45%. Vlerat e ndotjes kërpudhore ishin rreth 11% (Graf. 2.1.2).

Për copat e kërcellit si eksplante fillestare, sterilizimi me NaOCl 0.5% për 20' rezultoi me përqindje mbijetese 50%, ndërsa përqindja e eksplanteve nekrotike rezultoi (15%) dhe infeksioni kërpudhor (35%). Këto rezultate përputhen dhe me ato të punimeve të ngjashme (Ahmad *et al.*, 2003), që raportojnë përqindje të lartë mbijetese të eksplanteve të nënshartesës GF-677 në sterilizimin me NaOCl (0.25 %). Ndërsa sterilizimi me HgCl_2 0.03% për 20' rezultoi me përqindje mbijetese më të ulët 30 %. Përqindja e nekrozës ishte e lartë 55%. Vlerat e infeksionit kërpudhor rezultuan rreth 15%.



Grafiku 2.1.2. Përqindja e nekrozës dhe infeksionit kërpudhor të eksplanteve (sythe dhe copë kërcelli) sipas agentëve sterilizues

Meqënëse eksplantet e nënshartesës GF-677 nuk janë izoluar nga pemë të rritura në fushë, por janë marrë në serrë, të cilat konsiderohen si mjedise me kushte më të mira higjieno-sanitare, sterilizimi me reagentë të fuqishëm si HgCl_2 0.3% për 20 min. si lëndë toksike, dëmton qelizat bimore duke shfaqur dukurinë e nekrozës, që ndikon në uljen e përqindjes së mbijetësës së tyre si edhe shkakton vdekjen e tyre.

Efekti i klorurit të mërkurit në sterilizimin e eksplanteve të gjinisë *Prunus* të specieve bimore është raportuar nga (Sota, 2012) dhe disa autorë të tjerë (Pillai *et al.*, 1982, Sushma *et al.*, 2005; Muna *et al.*, 1999). Hosseini *et al.*, (2011) arriti sterilizimin me sukses të *Prunus mahaleb* L. me tretësirë HgCl₂ (0.1%) për 2 min.

Nadagoua *et al.* (1983) sterilizuan sythet e karafilit me tretësirë 0.12% (p/v) HgCl₂ për 15 min. Sedlak & Paprštein, (2008) trajtuan sythet e *Prunus avium* L. me tretësirë 0.15%. Shatnawi *et al.* (2007) trajtuan të njëjtën specie me tretësirë NaOCl 0.35% për 15 min. dhe etanol 70% për 30 sek.

Për stabilizimin e kulturave *in vitro* për çdo specie bimore është me rëndësi zgjedhja e agentëve sterilizues specifikë, të cilët eliminonë bakteret dhe kërpudhat nga indet e eksplanteve (Fiorino & Loreti, 1987; Berger *et al.*, 1994). Sterilizimi i eksplanteve me NaOCl 0.5% rezultoi më efektiv krahasuar me HgCl₂ 0.03%.

Skirvin (1984) ka treguar skema të ndryshme sterilizimi të eksplanteve të kulturave drufrutore bërthamore me shkallë të ndryshme infeksioni. Trajtimet me NaOCl me përqendrimet nga 0.5-0.8% janë më efektive në kontrollin e shkallës së ndotjes (Hu & Wang, 1983). Autorë të tjerë në punimet e tyre (Kamali *et al.*, 2001) arritën sukses në sterilizimin e eksplanteve të GF-677, duke përdorur sterilizues biklorurin e mërkurit HgCl₂ 0.1% për një kohë të shkurtër (3.5-6 sek). Rezultate të mira në sterilizimin e eksplanteve të GF-677 me HgCl₂ 0.01% kanë raportuar edhe (Maghaddam & Yadollahi, 2012).

2.1.2.2. Proliferimi i eksplanteve në kulturë

Për eksplantet e dy kategorive të nënshartesës së pjeshkës GF-677, pas inokulimit në terren ushqyes, u vu re se zhvillimi i tyre orientohet në bazë të natyrës së eksplantit që i përgjigjet edhe raportit citokininë/auksinë.

Sythet, janë eksplante që zotërojnë qendra meritematike, dhe, rrjedhimisht, është mjaft e lartë mundësia që ato të proliferojnë sipas organogjenezës direkte në kulturë. Pas pak javësh kultivim, prania e rregullatorëve të rritjes, ANA dhe BAP, orienton drejt formimit të organeve dhe vërehet zhvillimi i sytheve të reja (Fig. 2.1.3). Këto të fundit kalojnë pas 4-javësh në terrene të freskëta për zhvillim, ku në çdo 18-20 ditë filizat seleksionohen, ndahen dhe transferohen në terren ushqyes të freskët për të mundësuar shumimin e bimëzave *in vitro* më tej në dhomën vegetative.

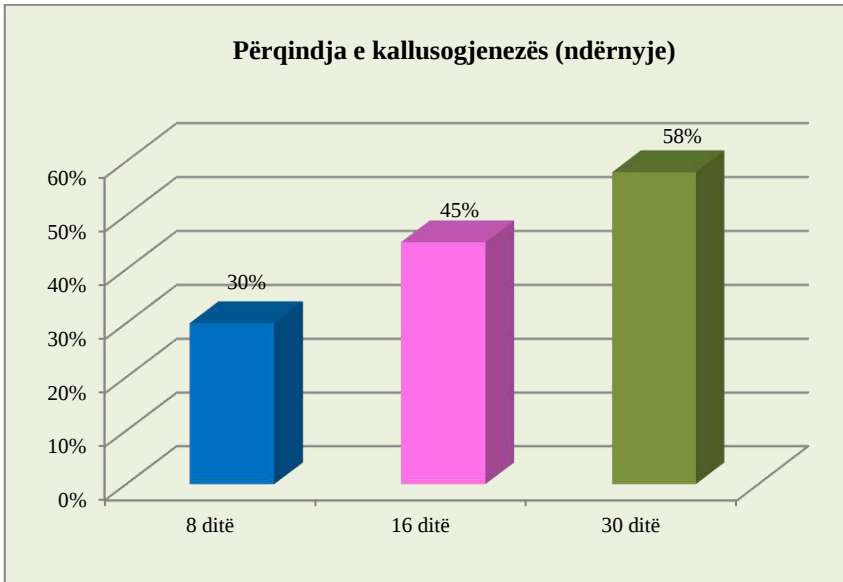
Organogjeneza direkte e eksplanteve në kulturë *in vitro*, përfaqësohet nga shfaqja e strukturave jeshile të pajisur me gjethe primare. Citokinina BAP indukton zhvillimin e sytheve, ndërsa auksina ANA dhe giberelina GA₃ përmirësojnë zgjatjen e rritjen e sytheve.



Figura 2.1.3. Organogjeneza direkte (sythe apikalë)

Copat kërcellore, fillimisht i nënshtrohen dediferencimit të qelizave të eksplantit, rifitimit të totipotencës dhe më tej ridiferencimit duke dhënë sythe adventivë. Ky proces shoqërohet me formimin e kallusit, dhe për këtë arsye quhet organogjenezë indirekte. Raporti i përzgjedhur citokininë/auksinë (BAP 0.35 mg l⁻¹: ANA 0.01 mg l⁻¹) e mbështet këtë proces.

Faza e parë është formimi i masës kallusore në buzët e eksplanteve disa ditë pas inokulimit (Fig. 2.4 a). Vendosja në dhomën vegetative për 3-4 javë, vë në dukje se në eksplantet e paorganizuar shfaqen kalluse të shkrifëta të përbërë nga qeliza parenkimatike në forma të ndryshme, me vakuola dhe bërthamë të padiferencuar mirë. Kallusi formohet nga qelizat e kambiumit (Haves & Jeunemaitre, 2001). Qelizat e kambiumit në kontakt me fitohormonet e terrenit ushqyes ndihmojnë proliferimin e qelizave të kambiumit (Kongjika *et al.*, 2002). Në mënyrë periodike, pas 8; 16; 30; ditësh u realizuan vrojtme dhe u analizua përqindja e kallusimit (Graf. 2.1.3).



Grafiku 2.1.3. Përqindja ekallusogjenezës (copa kërcellore)

Faza e dytë e organogjenezës është formimi i kallusit të ngjeshur, organizimi i mëtejshëm i të cilit çon në shfaqjen e meristemoideve. Edhe nga ana vizuale vërehet ndryshim i theksuar në morfologjinë e kallusit, proces ky i mbështetur jo vetëm nga raporti hormonal i jashtëm, por edhe nga bashkëveprimi dhe sasia totale e hormoneve endogjenë dhe ekzogjenë (Fig. 2.1.4 a).

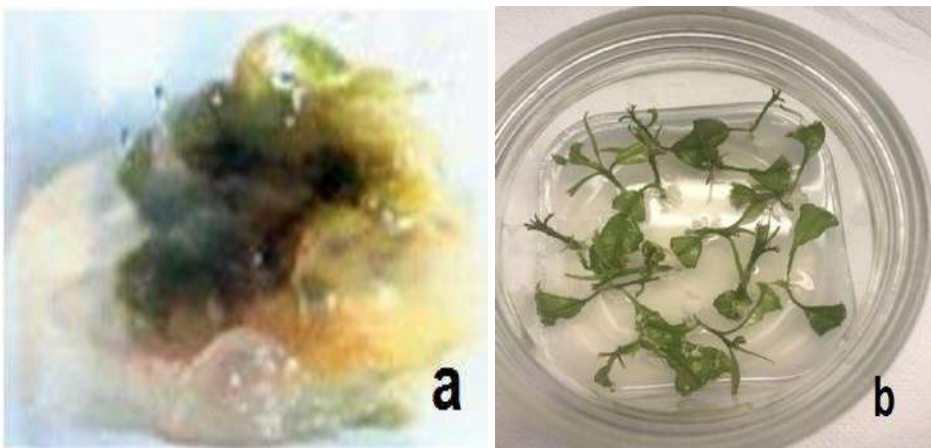


Figura 2.1.4. a) Formimi i kallusit masiv e meristemoidit **b)** Formimi i bisqeve

Faza e tretë është diferencimi i sytheve adventivë nga meristemoidet e krijuara. Fitohormoni auksinë ANA në terrenin ushqyes indukon neoformimet dhe zhvillimin e sytheve (Ammirato, 1983). Karakteristikë për eksplantet, është diferencimi i qelizave në brendësi, që shprehet në diferencat në ngjyrën e tyre. Zona ind-formuese përfaqëson prokambiumin fillestar. Struktura ka dy zona me qeliza rritëse në bazë dhe majë të saj. Këto zona me qeliza të vogla përfaqësojnë meristemën e bazës dhe atë të majës së strukturës, të cilat japin fillesat e rrënjëve primare, të sythit dhe gjethëzave primare. Në eksplantet më të rritura dallohet diferencimi i indeve. Në qendër është indi përçues dhe në fillesat e gjethëzave dallohet indi parenkimatik. (Kongjika *et al.*, 2002).

Sidoqoftë, kultivimi i eksplanteve që kalojnë nëpërmjet kallusogjenezës nuk është shumë i rekomanduar sepse, formimi i organeve të reja nga kallusi mund të rrisë mundësinë e shfaqjes së variacioneve somaklonale fiziologjike dhe morfologjike (Taiz & Zeiger, 2006).

Pas afro 4-javësh në sipërfaqe të çdo kallusi shfaqen sythe të zhvilluara mirë. Raporti i lartë citokininë/auksinë rregullon dhe favorizon formimin e kërcejve anësorë. Me qëllim zhvillimin e mëtejshëm të sytheve, eksplantet kalojnë në terrene ushqyese të freskëta për zhvillimin e sytheve të reja.

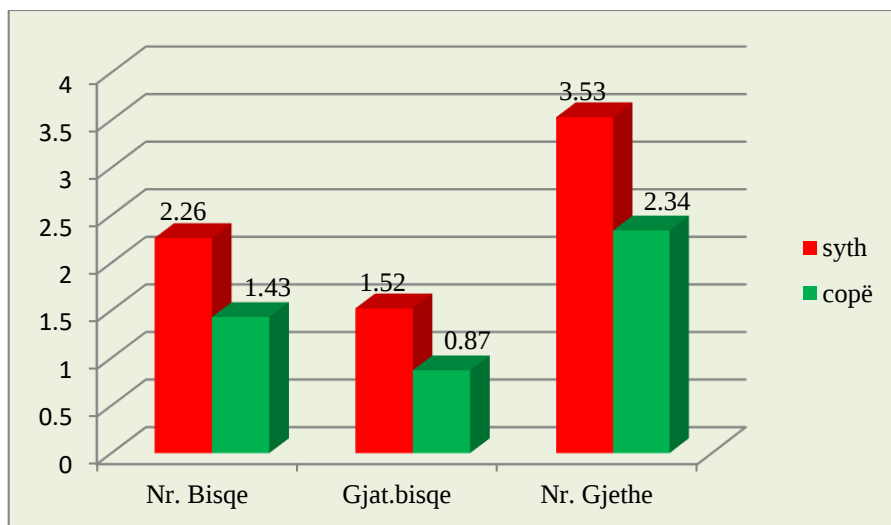
2.1.2.3. Potenciali rigjenerues i eksplanteve– sythe, në kultivimin *in vitro* të nënshartesës së pjeshkës GF-677

Studimi është realizuar në tre përsëritje dhe të dhënat janë përpunuar statistikisht. Të dhënat eksperimentale janë marrë pas 40 ditësh inokulimi të kulturave *in vitro* në terrenin e proliferimit. U analizuan mesataret e treguesve biometrikë: numri dhe gjatësi (cm) e bisqeve, si edhe numri i gjethëve për eksplant (Graf. 2.1.4) pas inokulimit në terren ushqyes universal MS.

Vlerësimi i numrit të bisqeve në provën sipas llojeve të eksplanteve për tre vitet e studimit, sipas Analizës së variancës (ANOVA) (Graf. 2.5), tregon se kemi ndryshime të vërtetuara statistikisht për nivelin e vërtetësisë $P = 0.05$, sipas testit Tukey-Kramer.

Analiza dhe krahasimet e mesatareve për variantet e studiuara për diferencën më të vogël të vërtetuar $Lsd = 2.77$ për $\alpha = 0.05$ i rendisin eksplantet në klasa të ndryshme, që përfaqësohen me gërma të ndryshme. Këto ndryshime ilustrohen në (Graf. 2.1.5), me ndryshueshmëri të vërtetuar statistikisht për

nivelin e propabilitetit ($P = 0.05$). Eksplantet -copë për parametrin numër bisqesh, janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme 1.85.



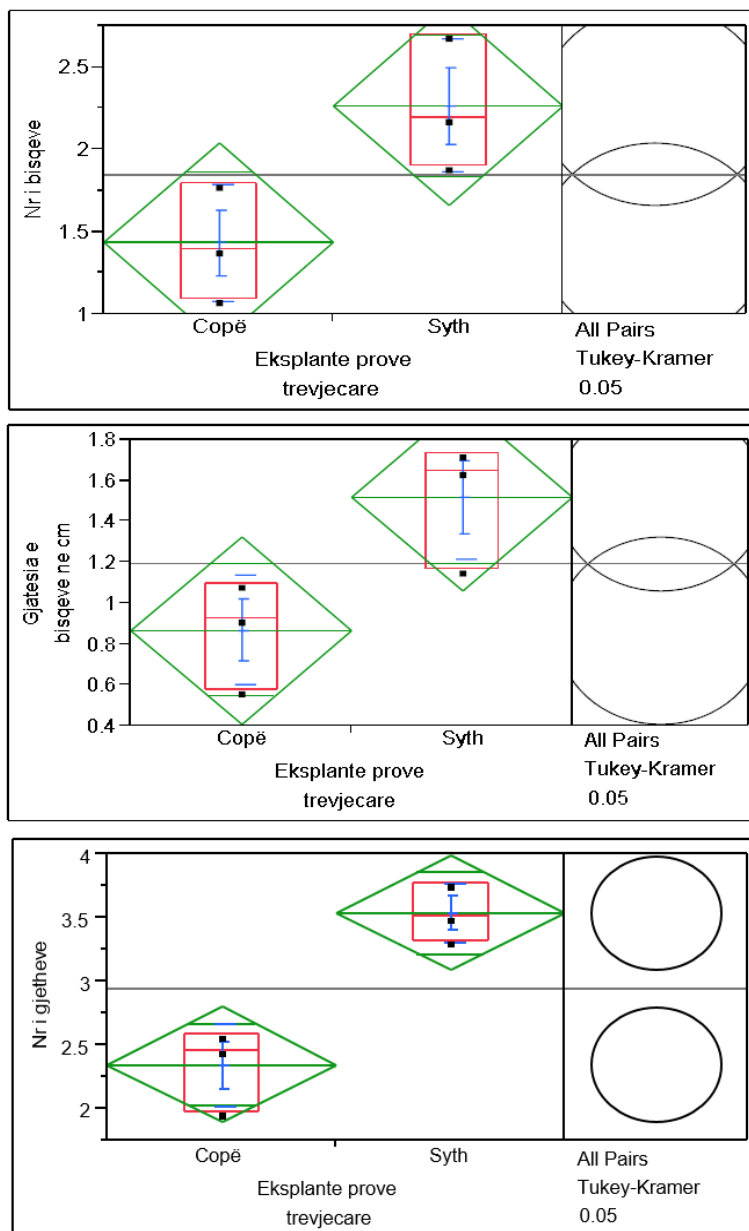
Grafiku 2.1.4. Indeksi i treguesve biometrikë sipas eksplanteve (numër mesatar i bisqeve, gjatësi mesatare e bisqeve, numër mesatar gjethesh)

Vlerësimi i parametrin të **gjatësisë së bisqeve** sipas llojeve të eksplanteve bazuar në analizën e variancës, tregon se kemi ndryshime të vërtetuara statistikisht për nivelin e vërtetësisë ($P = 0.05$) sipas testit Tukey-Kramer (Graf. 2.1.5). Analiza dhe krahasimet e mesatareve për variantet e studiuar për diferencën më të vogël të vërtetuar $Lsd = 2.7$ për $\alpha = 0.05$ i rendisin eksplantet në klasa të ndryshme që përfaqësohen me gërma të ndryshme dhe konkretisht eksplantet copë për parametrin gjatësi bisqesh, janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme 1.19.

Bazuar në vlerësimin e **numrit të gjethëve**, sipas analizës së variancës një faktoriale, tregon se ka ndryshime të vërtetuara statistikisht për nivelin e vërtetësisë $P = 0.05$. Varianti i eksplanteve copë kërcelli për parametrin numër gjethesh, janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme 2.93 (Graf. 2.1.5).

Kultivimi *in vitro* i nënshartesës së pjeshkës GF-677 duke provuar si material bimor eksplantë - sythe apikalë në terren ushqyes me përqendrim të larta të citokininave BAP, stimulon formimin e sytheve adventivë si dhe zhvillimin e tyre në bazën e kërcellit duke rritur përqindjen e proliferimit të sytheve të

reja. Rezultate të ngjashme në kultivimin *in vitro* të GF 677 kanë raportuar edhe autorë të tjerë (Dimassi-Theriou & Economou, 1993).



Grafiku 2.1.5. Bokspotet për parametrat e ndryshëm biometrikë të matur

Kur përdoren **sythe** si eksplante fillestare vërehet diferencim i fuqishëm i bisqeve pas 40 ditësh inokulimi, që tregohet në matjet e mesatareve të treguesve biometrikë: numër bisqesh (2.26), gjatësi bisqesh (1.52 cm), numër gjethesh (3.53) për eksplant.

Autorë të tjerë (Sota, 2012; Taiz *et al.*, 2006) përfundojnë në punimet e tyre, se sythet janë struktura të organizuara, të cilat kalojnë në organogjenezë direkte dhe kanë epërsi për faktin se qelizat bimore kanë potencial rigjenerues të lartë, favorizuar nga gjendja fiziologjike e mirë. Përqendrimet e larta të fitohormoneve, luajnë rol të rëndësishëm në fazën fillestare të kallusogjenezës dhe atë të diferencimit të bisqeve.

Eksplantet e paorganizuar, siç janë **copat kërcellore** konsiderohen (Çaushi *et al.*, 1998) si qeliza “të papërcaktuara”, që kanë shpejtësi shumimi në formimin e kallusit, duke kaluar në organogjenezë indirekte, me indeks të lartë të kallusogjenezës (58%).

Neuman *et al.* (2009) thekson se në indet e paorganizuara mungojnë qendrat meristemmatike të organizuara dhe këto eksplante bimore indore shfaqin totipotencën në sajë të përgjigjes së tyre ndaj stimulit fiziologjik dhe mjedisor. Organogjeza indirekte e gjetheve të *Prunus amygdalus* në terren LP është raportuar nga (Hassan *et al.*, 2010).

Për mikroshumimin me sukses të GF-677, rezulton se në proceset e organogjenezës së bimës më efikas është kultivimi i sytheve apikalë, të cilat realizojnë rritje të organizuar që ndikon në formimin e sytheve anësore, në ruajtjen e strukturës uniforme dhe të përcaktuar (Hartman *et al.*, 1982).

Këto rezultate përputhen dhe me studime të tjera (Kamali *et al.*, 2001) në kultivimin në terren MS të GF-677 nga sythe apikalë dhe anësorë. Caboni *et al.* (1999) kanë raportuar në punime të ngjashme kultivimin e sytheve të *Pyrus pyraster* në terren LP me kombinim fitohormonesh.

Autorë të tjerë (Gurel & Gulsen, 1998; Namali *et al.*, 2011) kanë raportuar rezultate optimale në mikroshumimin e *Prunus amygdalus* duke kultivuar eksplante sythe apikale në terren MS. Marino *et al.* (1989) dhe Muna *et al.* (1999) arritën rezultate të mira në proliferimin e specieve të gjinisë *Prunus* në kultivimin e sytheve të reja.

2.1.3. Përfundime

- Sythet, si struktura të organizuara që kalojnë në organogjenezë direkte rezultojnë eksplantet më optimale për mikroshumimin e nënshartesës të pjeshkës GF-677.
- Copat e kërcejve, duke qenë se shfaqin kallusogjenezë të theksuar, nuk rekomandohen për përdorim si eksplante fillestare, për shkak të rritjes së mundësisë së shfaqjes së variacioneve somaklonale.
- Sythet si eksplante me strukturë të organizuar japin përqindje mbijetese, proliferimi dhe rigjenerimi më të lartë në bazë të të dhënave të treguesve biometrikë.

2.2. Efekti i përqendrimit të kripërave në proliferimin dhe rrënjëzimin e nënshartesës së pjeshkës GF-677

2.2.1. Materiali dhe Metoda

Për këtë eksperiment janë përdorur bimëza të fituara nga eksperimenti paraardhës. Mikroshumimi i bimëzave të fituara *in vitro* realizohet pas 40 ditësh, nga diferencimi i eksplanteve. Sythet (1-2 cm) u vendosën në terren ushqyes për stimulimin, formimin dhe shumimin e sytheve anësore.

Studimi u përqëndrua në kultivimin *in vitro* në terrene bazale të ndryshme (Pasqyra 2.2.1) të sytheve, me qëllim evidentimin e terrenit bazë optimal për këtë qëllim. Për këtë arsye, u testuan në fazën e shumimit dhe rrënjëzimit janë marrë në provë tre protokolle të ndryshme të terreneve ushqyese: MS (Murashige & Skoog, 1962), MS/2, DKW (Driver & Kuniyuki, 1984).

Në stadin e subkulturës- përbërja hormonale e testuar për të tri terrenet bazë ishte BAP 0.35 mg l⁻¹, AIB 0.1 mg l⁻¹, GA₃ 0.1 mg l⁻¹. U realizuan tre subkultura të njëpasnjëshme në çdo 18-20 ditë, në mënyrë që të krijohej një numër i madh bimëzash të gatshme për kalimin në fazën pasardhëse

Në stadin e rrënjëzimit - përbërja hormonale e testuar për të tre terrenet bazë ishte AIB 0.1 mg l⁻¹, që stimulon zhvillimin e sistemit rrënjor për 15-20 ditë.

Pasqyra 2.2.1. Përbërja e terreneve të ndryshme të shumimit të bimëzave GF-677 në (mg l⁻¹)

Makro-elementët	MS	MS/2	DKW
NH ₄ NO ₃	1650	825	1416
CaCl ₂ 2H ₂ O	440	220	144
Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O	-	-	1960
MgSO ₄ 7H ₂ O	370	185	743
KNO ₃	1900	950	-
KH ₂ PO ₄	170	85	258
K ₂ SO ₄	-	-	1560
Mikro-elementët			
CoCl ₂ 6H ₂ O	0.025	0.01	0.05
CuSO ₄ 5H ₂ O	0.025	0.01	0.05
FeSO ₄ 7H ₂ O	27.85	13.92	27.85
Na ₂ -EDTA	37.25	18.62	37.25
MnSO ₄ H ₂ O	16.9	8.45	32
KJ	0.83	0.41	1.6
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0.25	0.12	5.0
ZnSO ₄ 7H ₂ O	8.6	4.3	21.2
Zn(NO ₃)·6H ₂ O	-	-	-
H ₃ BO ₃	6.2	3.1	12.4
Aminoacidet			
Glicina	2.0	2.0	1.0
Cisteina	-	-	1.0
Vitaminat			
Acid nikotinik, PP	0.5	0.5	1.0
Tiamina HCl, B ₁	0.1	0.1	1.0
Piridoksina, B ₆	0.5	0.5	1.0
Pantotenat Ca	-	-	1.0
Biotina	-	-	0.05
Mio-inozitol	100	100	100

Për ambientimin u përdorën bimëzat e rrënjëzuara të fituara në stadin paraardhës. Bimëzat e nënshartës GF-677 me gjatësi 7-8 cm, me 5-6 gjethe, me rrënjë të zhvilluara me gjatësi 2-3 cm, u transferuan në serrën e ambientimit, në kushte *in vivo* duke përzgjedhur bimët me sistem rrënjor të zhvilluar dhe duke eliminuar bimët me kallus. Bimët pas trapjantimit u spërkatën me ujë, fungicide (Fosetyl aluminium dhe Folpet). U vendosën në kontenitorë alveolati në formë kubike dhe më pas në bankalet e ambientimit, ku u realizua ngrohja bazale. U mbuluan me plastmas polietileni për të siguruar lagështirën relative 90-100%. Trajtimi i bimëve të GF-677 u bë sipas kalendarit ditor për 40 ditë, me tretësira hormonale (radifarmë NAA); tretësira fungicide (Iprovalicarb dhe Folpet); tretësira insekticide (Pirimiphos methyl).

Kohëzgjatja e ambientimit të specieve frutore bërthamore konsiston në raportin stinë/specie (Kozai, 1991). Aklimatizimi i nënshartës së pjeshkës GF-677 u realizua në afat kohor 35-40 ditë në pranverë. Pas ambientimit në serrë, bimët u trapjantuan në hijëzim për të favorizuar rritjen normale të materialit bimor. Prova eksperimentale bazuar në llojin e materialit bimor të kultivuar në mikroshumimin e nënshartës GF-677 rezultoi efikase për eksplantet sythet apikale, me potencial rigjenerues të lartë të kulturave qelizore bimore.

Treguesit biometrikë në studim janë: numri dhe gjatësia e bisqeve, numri dhe gjatësia e rrënjëve. Veç kësaj u vlerësuan dhe u analizua në mënyrë të vazhdueshme edhe tregues vizualë dhe morfologjikë.

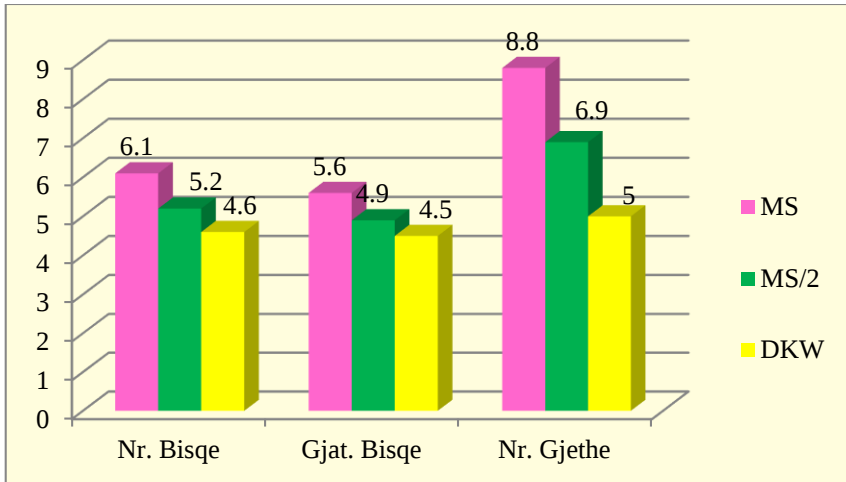
2.2.2. Rezultate dhe diskutime

2.2.2.1. Proliferimi i sytheve në terrene të ndryshme bazale

Sythet u inokuluan në tre terrenet ushqyese, proces që u krye në dhomën e boksit laminar, e më pas u vendosën në dhomën vegjetative në kushte me parametra të kontrolluar. Pas 45-ditësh të fazës të inokulimit në dhomën e rritjes vegjetative, u kryen matjet e treguesve biometrikë: numri e gjatësia e bisqeve për eksplant dhe numri i gjetheve, për tre terrenet: MS, ½MS, DKW (Graf. 2.2.1).

Analiza e variancës dhe krahasimet e mesatareve për variantet e studiuar për diferencën më të vogël të vërtetuar $Lsd = 3.06$ për@ $=0.05$ i rendisin terrenet

MS, MS/2, DKW në klasa të ndryshme, që ilustrohen në (Graf. 2.2.2), ku vërehet qartë që terrenet kanë ndryshueshmëri të vërtetuar statistikisht për nivelin e probabilitetit ($P = 0.05$).



Grafiku 2.2.1. Treguesit biometrikë në fazën e prolifërimit sipas terreneve ushqyese bazë të testuara

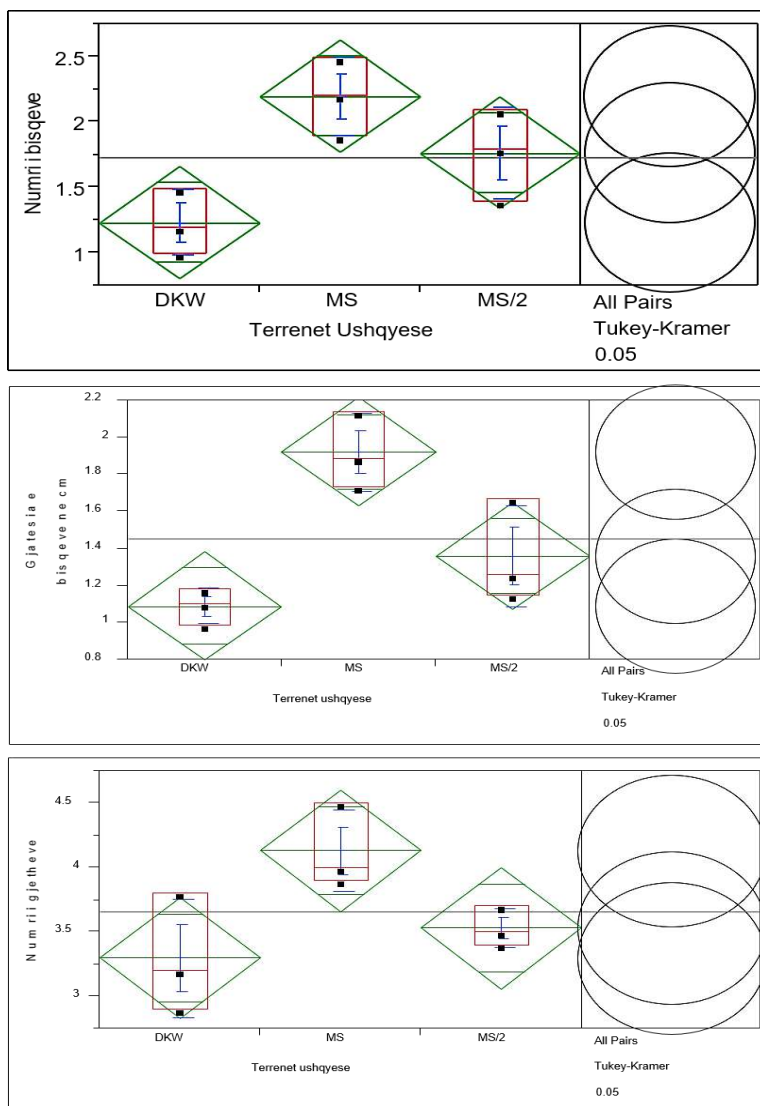
Analiza e variancës mbi vlerësimin e numrit të bisqeve në provën sipas terreneve ushqyese pas 45 ditësh, rezultoi më i mirë për terrenin MS (Fig. 2.2.1), dhe tregon se ka ndryshime të vërtetuara statistikisht për nivelin e vërtetësisë $P = 0.05$ sipas testit Tukey-Kramer (Graf. 2.2.2).

Terrenet MS/2 dhe DKW për parametrin gjatësi bisqesh, janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme 1.45, por duke rezultuar në vlerat më të mira në terren ushqyes MS. Në vlerësimin e numrit të gjetheve në bazë të analizës së variancës në provën sipas terreneve ushqyese pas 45 ditësh, rezulton se kemi ndryshime të vërtetuara statistikisht por jo të rëndësishme për nivelin e vërtetësisë $P = 0.05$ sipas testit Tukey-Kramer.

Terrenet e provuara kanë ndryshueshmëri të vërtetuar statistikisht për nivelin e probabilitetit ($P = 0.05$), dhe konkretisht terrenet MS/2 dhe DKW për parametrin numër gjethesh, janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme 3.65.

Në fazën e zhvillimit të sytheve, filizat janë të shkurtër dhe në rozetë për shkak të niveleve të larta të karbonit në terrenin e kulturës. Epërsi ka terreni

ushqyes MS me përqendrim optimal kripërash krahasuar me terrenet e tjera. Terreni MS përmban sasi të lartë të joneve amonium (20.6 mM) dhe të joneve nitrat (39.4 mM). Thorpe *et al.* (1989) kanë raportuar se përqendrimi optimal i amoniumit dhe i nitratit në raportin 1:3 ndikon në formimin e kërcejve adventivë të *Picea glauca*, pasi ato janë burim i azotit në kulturën *in vitro*.



Grafiku 2.2.2. Boksplotet (variancat, deviacioni standard, mesatarja) për të gjithë parametrat biometrikë të monitoruar gjatë fazës së proliferimit të sytheve në tre terrene bazë

Rezultatet eksperimentale tregojnë se kultivimi më i mirë i GF-677 u arrit në terrenin MS: mesataret (numri i bisqeve 2.2, gjatësi e bisqeve 1.92 cm, numri i gjetheve 4.1). Duke krahasuar molaritetin e joneve kryesore në terrenet e kulturës (MS, MS/2, DKW), u evidentua që në fazën e inokulimit të eksplanteve të GF-677 nevojitet substrat jo me përqendrim të lartë kripërash, si në rastin e terrenit DKW, sepse bimët në aspektin fiziologjik paraqiten të zverdhura dhe me majë nekrotike.



Figura 2.2.1. Bimëza të GF-677 në terren MS

2.2.2.2. Subkultura në terrene të ndryshme bazale

Faza e mikroshumimit u realizua me anë të subkulturave (Fig. 2.2.2) me qëllim rifreskimin e komponentëve ushqyes të terrenit dhe stimulimin e zhvillimit të sytheve dhe kërcejve anësorë. U realizuan matjet biometrike për terrenet ushqyese të provuara. Parametrat e studiuar ndikohen dhe ndryshojnë në varësi të terrenit ushqyes. Vihen re ndryshime në reagimin e eksplantëve të GF-677 në terrenet e provuara pas tre subkulturash që zgjatën nga 20 ditë secila. Nga pikëpamja morfologjike, filizat e reja të GF-677 janë të formuara me gjethe të stërgjatura dhe të rralla.

Gjatë kohës së subkulturave u monitoruan në mënyrë periodike të njëjtët parametra biometrikë në tre terrenet bazale të testuara, dhe të dhënat statistikore tregojnë diferenca të dukshme (Graf. 2.2.4; Fig. 2.2.3.). Analiza mbi vlerësimin e numrit të bisqeve në provën sipas terreneve ushqyese në fazën e subkulturës, tregon se ka ndryshime të vërtetuara statistikisht për nivelin e vërtetësisë $P = 0.05$ sipas testit Tukey-Kramer.

Ndikimi i terreneve ka ndryshueshmëri të vërtetuar statistikisht për nivelin e probabilitetit ($P=0.05$), dhe konkretisht terrenet MS/2 e DKW për parametrin numër bisqesh, janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme 4.3. Terreni ushqyes MS rezultoi me numrin mesatar më të lartë të bisqeve (6.13), në ndryshim nga terreni MS/2 (5.2) dhe terreni DKW (4.6).



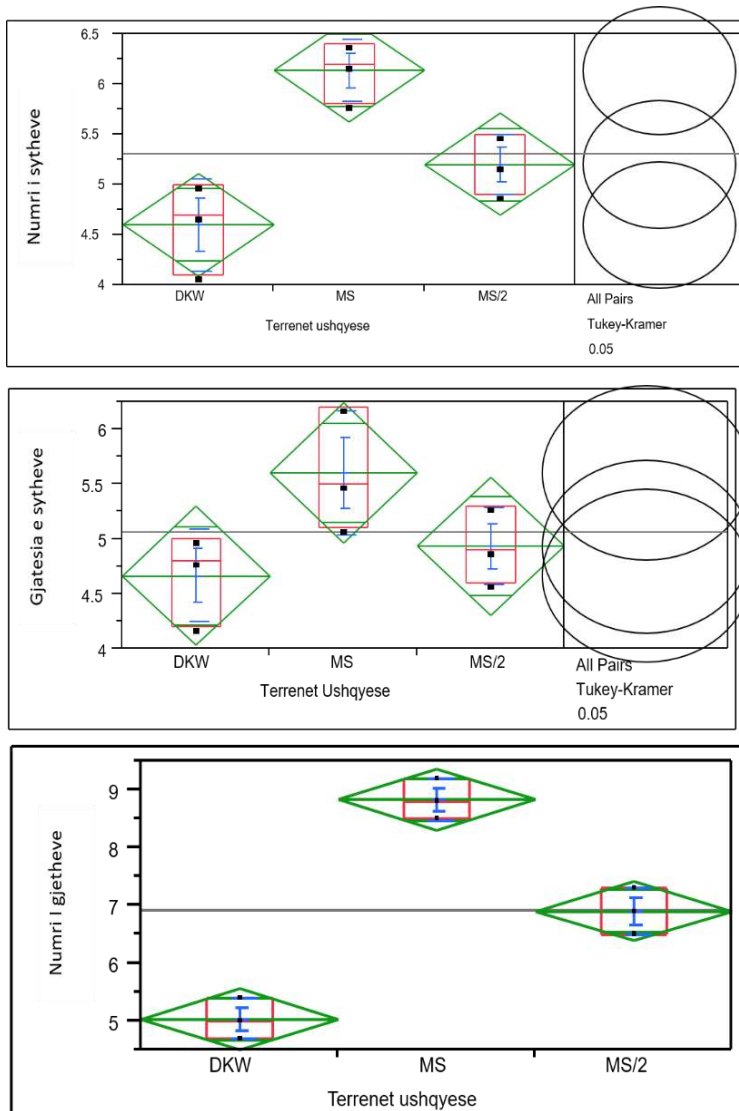
Figura 2.2.2. Bimëza të GF-677 në subkulturë

Ndryshime rezultojnë edhe për parametrin e gjatësisë së sytheve dhe numrit të gjethëve për terrenin MS, krahasuar me MS/2 e DKW. Në fazën e subkulturës bimëzat e kultivuara në terren MS rezultuan me zhvillim më të mirë krahasuar me bimëzat në terrenet MS/2 dhe DKW, e vërtetuar kjo edhe statistikisht. Analiza e variancës mbi vlerësimin e gjatësisë së sytheve në provën sipas terreneve ushqyese në fazën e subkulturës III, tregon se ka ndryshime jo shumë të rëndësishme të vërtetuara statistikisht për nivelin e vërtetësisë $P= 0.05$.

Vihet re në këtë stad, rritje e konsiderueshme e masës gjethore dhe më pak e gjatësisë së kërcellit. Formimi i bisqeve të reja është si rezultat i bashkëveprimit të hormoneve citokininë BAP dhe auksinë ANA (Scarpa *et al.*, 2000; Damiano *et al.*, 2008). Efektet e përqendrimit të terreneve të ndryshme janë të dukshme në shkallën e proliferimit të GF-677. Pas 40 ditësh inokulimi, terreni MS rezultoi më i mirë, duke krahasuar vlerat e mesatareve (numër bisqesh 2.2, gjatësi bisqesh 1.92 cm, numër gjethesh 4.13), e ndjekur nga terreni MS/2.

Në fazën e subkulturës (Grant & Hammat, 1999), bimëzat në terrenin DKW u zverdhën duke shfaqur dukurinë e nekrozës dhe raste të oksidimit të indeve, si pasojë e përqendrimit të lartë të kripërave në terren.

Në fazën e proliferimit të bimëzave në terrenin DKW, u vu re dukuria e vitrifikimit (pamja qelqore) e bimëve, si kultura të dobëta, me maja nekrotike, gjethë të mëdha, tregues i mungesës së juvenilitetit, bimë të zverdhura dhe në formë harku (Damiano *et al.*, 2004).



Grafiku 2.2.3. Boksplotet (variancat, deviacioni standard, mesatarja) për të gjithë parametrat biometrikë të monitoruar gjatë fazës së subkulturës së sytheve në tre terrene bazë

Autorë të tjerë (Nas & Read, 2004), kanë fituar rezultate të kënaqshme në përdorimin e terrenit DKW për disa kultivarë të bajames. Zekaj *et al.* (2000), kanë raportuar kultivimin *in vitro* me sukses të embrionit të arrës në terren DKW. Caboni *et al.* (2003) raporton rezultate optimale në rrënjëzimin e *Juglans regia* L. në terren DKW.

Në analizimin e të dhënave, rezultatet më të mira të kultivimit *in vitro* të eksplanteve të GF-677 në fazën e proliferimit pas tre subkulturash, u morën në terrenin MS. Përsa i takon mesatares së gjatësisë së bisqeve nuk rezultojnë ndryshime sinjifikative mes terreneve MS/2 dhe DKW. Rezultate të mira në proliferimin e GF-677 u fituan dhe me terrenin MS/2, me gjysmën e përqendrimit të kripërave (Dimassi, 1995).

Terreni MS vlerësohet optimal, bisqet janë të zgjatura, të hollë dhe me ngjyrë të gjelbër intensive, bisqet e reja u zhvilluan normalisht dhe pa prani nekroze (George *et al.*, 2007). Këto rezultate janë në përputhje dhe me punime të ngjashme mbi GF-677 (Ruzić *et al.*, 2000).

Ahmad, (2003) raporton se rritja më e mirë e bimëzave të nënshartesës GF-677 në terrenin MS është pasojë e përmbajtjes më të lartë të azotit (1471 mg l^{-1}) dhe kaliumit 781 mg l^{-1}), që ndikon në zhvillimin e bisqeve.

Crawford (1995) ka raportuar se azoti mund të luajë rolin e molekulës sinjal për rritjen e bimës, duke rritur shprehjen e gjeneve për enzimën përkatëse që përthithin dhe përdorin nitratin. Ludden & Carlson (1980) kanë dalë në përfundimin se rritja në terren me përqendrim të ulët të azotit nuk është e mjaftueshme për të shkaktuar induksion në enzimën nitrat- dhe nitrit reduktaza.

Sedlak & Paprštein, (2008) dhe Shatnawi *et al.* (2007) kanë raportuar mikroshumimin me sukses të *Prunus avium* në terren MS. Ruzić *et al.* (2008) kanë raportuar mikroshumimin me sukses të eksplanteve sythe të *Prunus avium* në terren MS, kombinuar me BAP. Autorë të tjerë (Gurel & Gulsen, 1998; Marino *et al.*, 1989; Muna *et al.*, 1999) kanë raportuar rezultate optimale në mikroshumimin e gjinisë *Prunus* duke kultivuar eksplante sythe në terren MS.

Kamali *et al.* (2004) referojnë rezultate të mira në shumimin dhe rrënjëzimin në terrenin KNOP me (1 mg l^{-1}) BAP dhe (0.3 mg l^{-1}) ANA për rrënjëzim. Garoosi *et al.* (2010) kanë provuar terrenet GNH, Touquer, MS dhe Anderson, ku rezultatet më të mira i kanë marrë duke përdorur terrenin MS.

Antonopoulou *et al.* (2004; 2007), kanë raportuar rezultate të mira në shtimin e GF-677 në studimin e përqendrimit të komponentëve përbërës të terrenit ushqyes. Jounas *et al.*, (2008) kanë fituar rezultate të mira në formimin e bisqeve të GF-677 me përdorim si burim karboni (sakarozë + glukozë) në 15g l⁻¹ secila.



Figurë 2.2.3. Bimë GF-67: (a) në terren MS; (b) në terren MS/2; (c) në terren DKW

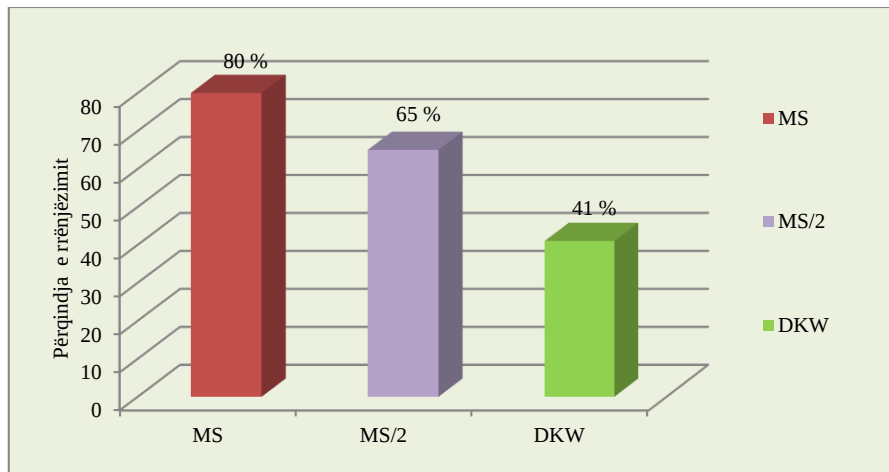
2.2.2.3. Faza e rrënjëzimit

Pas fazës së shumimit u kalua në fazën e rrënjëzimit të bimëzave duke përdorur terren rrënjëzimi përkatësisht sipas tre protokolleve të terreneve të shumimit (MS, MS/2, DKW), në prani të hormonit AIB 0.1mg l⁻¹, që indukton fillimin e formimit të sistemit rrënjor duke ndihmuar rizogjenezën (Dimassi, 1989). Përqendrimi i auksinës AIB në terrenin ushqyes ndikon në indeksin e rrënjëzimit dhe në karakteristikat e rrënjëve. Faza e rrënjëzimit pas 20 ditësh të kultivimit të bimëzave tregoi ndryshime të theksuara për tre terrenet e provuara, në aspektin numerik dhe morfologjik (Graf. 2.2.4).

Nga rezultatet eksperimentale në tre përsëritje, terreni ushqyes MS është më efikas në rrënjëzimin e GF-677, me bimë të zhvilluara me ecuri normale, gjethe të stërgjatura, me përmasa mesatare, ngjyrë jeshile (Ahmad, 2002; 2003). Përqindja e rrënjëzimit ishte e lartë 80% (Graf. 2.2.4) dhe veç kësaj u vlerësuan dhe parametra të tillë si: mesataret e numrit të rrënjëve (4.1); gjatësi e rrënjëve (2.36 cm) (Graf. 2.2.5).

Efekti nxitës i përqendrimit të kripërave në terrenin e kulturës në fazën e rrënjëzimit i detyrohet pranisë së joneve inorganike në procesin e rregullimit të balancës hormone (Amzallag *et al.*, 1992).

Molassiotis *et al.* (2003) kanë raportuar studime për GF-677 mbi efektin e kripërave organike (Fe-EDTA dhe Fe-EDDTHA) dhe kripërave inorganike (FeCl₃) në arritjen e vlerave më të larta në rrënjëzim.



Grafiku 2.2.4. Indeksi i rrënjëzimit sipas terreneve bazë të testuara

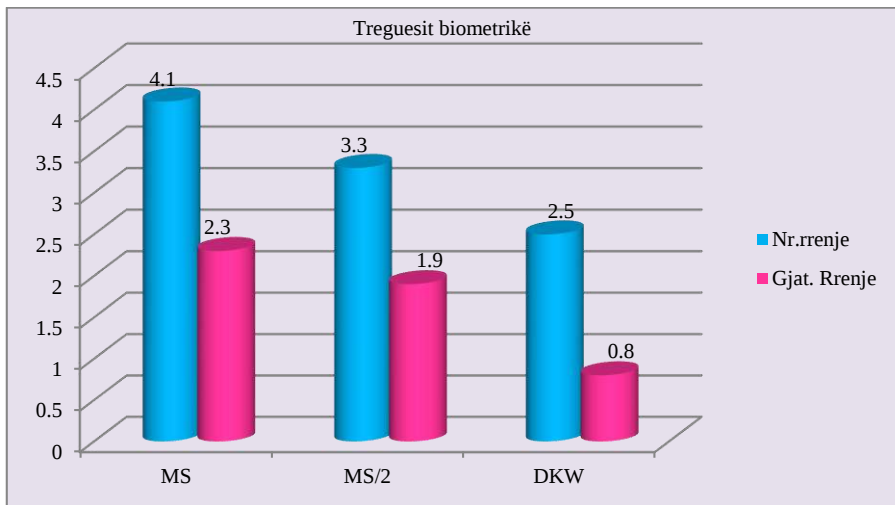
Bimët e kultivuara në **terrenin MS/2** patën ecuri normale, me gjethe me zhvillim mesatar, të rrënjëzuara mirë me përqindje rrënjëzimi (65%), numri i rrënjëve (3.3) dhe gjatësi e rrënjëve (1.93cm). (Dimassi-Theriou,1995; Fotopoulos & Sotiropoulos, 2005) kanë raportuar se zvogëlimi i përqendrimit të kripërave në terrenin MS, ndikon në rritjen e përqindjes së rrënjëzimit dhe stimulon zgjatjen e rrënjëve. Efekti i zvogëlimit të kripërave në rrënjëzim shpjegohet me reduktimin e përqindjes së azotit (Driver & Suttle, 1987).

Terreni DKW rezultoi terren jo efikas për mikroshumimin e GF-677, bimë me gjethe të mëdha dhe të zverdhura, bisqe të përkulur, me prani të nekrozës dhe vitifikimit (Damiano *et al.*, 2004), ku përqindja e rrënjëzimit rezultoi e ulët (41%), numri i rrënjëve (2.5) dhe gjatësia e rrënjëve (0.86 cm) (Graf. 2.2.5; 2.2.6).

Sipas varianteve të studiura, vlerat mesatare të numrit të rrënjëve sipas terreneve të ndryshme MS, MS/2, DKW patën diferenca. Terreni MS rezulton optimal krahasuar me terrenet MS/2 dhe DKW, por me diferencë të madhe me terrenin DKW në rrënjëzimin e nënshartesës së pjeshkës GF-677.

Vlerësimi i **numrit të rrënjëve** në provën sipas terreneve ushqyese në fazën e rrënjëzimit tregon se ka ndryshime të vërtetuara statistikisht për nivelin e vërtetësisë ($P=0.05$) testi Tukey-Kramer (Graf.2.2.6). Terrenet e provuara kanë ndryshueshmëri të vërtetuar statistikisht për nivelin e probabilitetit ($P = 0.05$), ku terreni DKW për parametrin numër rrënjësh është nën vlerën e mesatares së përgjithshme 3.3.

Vlerësimi i **gjatësisë së rrënjëve** në provën sipas terreneve ushqyese në fazën e rrënjëzimit, tregon se kemi ndryshime statistikore sinjifikative për ($P = 0.05$), ku terreni DKW për parametrin gjatësi rrënjësh është nën vlerën e mesatares së përgjithshme (1.7).

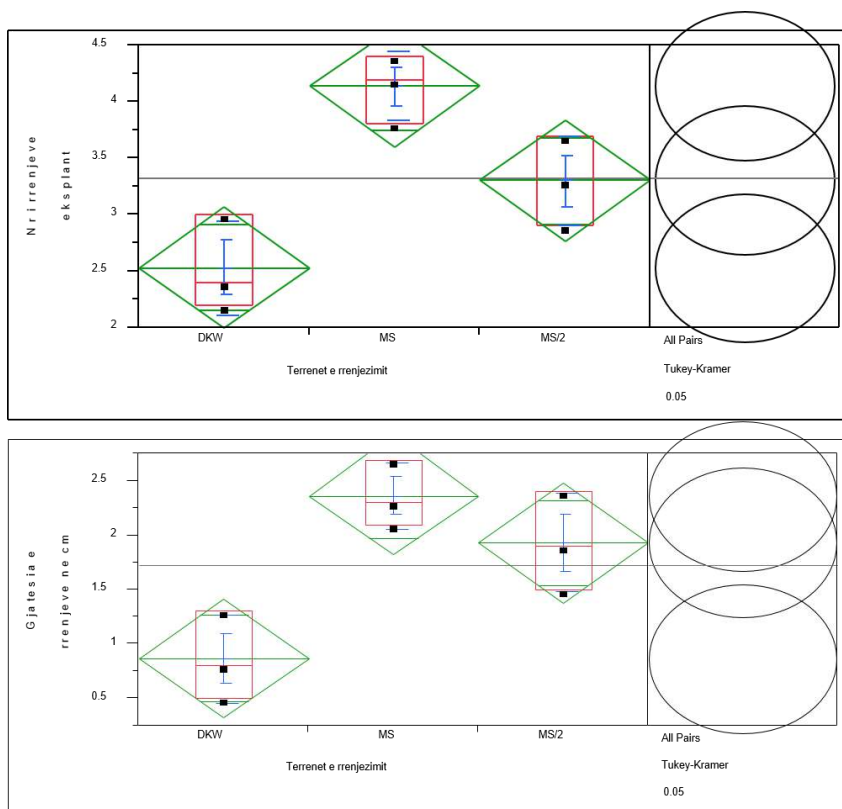


Grafiku 2.2.5. Treguesit bimetrikë të stadit të rrënjëzimit të monitoruar gjatë kultivimit në tre terrenet ushqyese bazë të testuara

Terrenet MS dhe MS/2 kanë ndryshime të vogla statistikore për parametrin e gjatësisë së rrënjëve. Ndryshime ekzistojnë për terrenin DKW. Referuar Analizës së Variancës ($P < 0.05$), në analizën njëdrejtimëshe të parametrave në studim, rezultojnë ndryshime të rëndësishme statistikore midis terreneve për parametrin e numrit mesatar të rrënjëve, por jo ndryshime sinjifikante për mesataren e gjatësisë së rrënjëve për terrenin MS me MS/2, ndërsa me ndryshime statistikore me terrenin DKW.

Efekti i zvogëlimit të sasisë së kripërave është favorizues për rrënjëzimin që shpjegohet me uljen e përqendrimit të azotit (Driver & Suttle, 1987).

Roli i auksinës AIB në induktimin e rizogjenezës është raportuar nga disa autorë në rrënjëzimin e shumë specieve (Shatnawi *et al.*, 2007; Kamali *et al.*, 2001, 2006; Sehpavand *et al.*, 2012).



Grafiku 2.2.6. Analiza e variancës një faktoriale për treguesit bimetriqë të stadiit të rrënjëzimit të monitoruar gjatë kultivimit në tre terrenet ushqyese bazë të testuara

2.2.2.4. Faza e aklimatizimit

Ky proces konsiderohet delikat për bimëzat, të cilat i janë përshtatur tipit heterotrof të të ushqyerit, ndriçimit të dobët, duke kaluar në ambientimin në serrën e aklimatizimit, në kushte *in vivo* autotrofe, ndriçimi i lartë dhe në kushtet e stresit hidrik të fortë (Fig. 2.2.3). Indeksi i aklimatizimit rezultoi (75%) për bimëzat e nënshartesës GF- 677.

Bimëzat e rrënjëzuara me rrënjë të shkurtra rezultuan me mbijetesë më të lartë se ato me rrënjë të gjata, që treguan mbijetesë më të ulët. Pas qëndrimit rreth një muaj në serrën e aklimatizimit, bimët u kaluan në ambientin e hijëzimit (Fig. 2.2.3 a, b).



Figura 2.2.3. a) Bimë *in vivo* të GF-677 në aklimatizim **b)** Bimë e rritur e GF-677 në hijëzim

2.2.3. Përfundime

- Terreni ushqyes më i mirë në mikroshumimin e GF-677 rezultoi MS në të gjitha stadet e kulturës;
- Terreni MS/2 i përgjysmuar në makro-mikrokripëra mund të përdoret me efikasitet për kultivimin e GF-677, sepse ka kosto ekonomike më të ulët.
- Terreni DKW nuk këshillohet të përdoret për mikroshumimin e GF-677, pasi ka përqendrim të lartë kripërash duke ndikuar në uljen e përqindjes së proliferimit dhe rrënjëzimit, si edhe favorizon shfaqjen e nekrozës dhe vitrifikimit.

2.3. Efekti i modifikimit të terrenit ushqyes në rrënjëzimin e nënshartesës së pjeshkës GF- 677

2.3.1. Materiali dhe Metoda

Si material fillestar u përdorën sythe të nënshartesës GF-677 të rritura në kushte *in vitro*.

Rigjenerimi *in vitro* u bë në terren bazë MS me përmbajtje ANA 0.01 mg l⁻¹; AIB 0.1 mg l⁻¹; BAP 0.35 mg l⁻¹; GA₃ 0.1 mg l⁻¹; sheqer 30 g l⁻¹; agar 7 g l⁻¹; Rrënjëzimi u realizua në terren MS me përmbajtje AIB 0.1 mg l⁻¹, sheqer 30 g l⁻¹; agar 7 g l⁻¹;

Në secilin nga stadet e mësipërme u testua efekti i pektinës dhe dy vlera të ndryshme pH në trajtimet si vijon:

*Terren MS me pH = 5.25

*Terren MS me pH = 5.8

*Terren MS me pektinë 7 g l⁻¹ dhe me pH = 5.25

*Terren MS me pektinë 7 g l⁻¹ dhe me pH = 5.8

Për çdo terren u përdorën 10 bimë x 4 përsëritje.

Eksplantet u vendosën në dhomën e rritjes vegjetative në kushte me parametra të kontrolluar: fotoperiodë 16 orë dritë/8 orë errësirë, temperaturë 24±1°C, intensitet ndriçimi 3000 lux.

Gjatë ditëve të kulturës në secilin stad u vlerësuan treguesit biometrikë në proliferim dhe rrënjëzim si: numri dhe gjatësi e bisqeve, numri i gjetheve për eksplant, numri dhe gjatësi e rrënjëve, treguesit vizualë morfologjikë.

2.3.2. Rezultate dhe Diskutime

2.3.2.1. Efekti i pektinës dhe i vlerës së pH në rigjenerimin *in vitro* të eksplanteve

Nga provat eksperimentale pas dy subkulturash që zgjatën nga 18 ditë secila, u përcaktua si terreni më i mirë (Fig. 2.3.1), terreni MS me (pH = 5.2 + pektinë), me bimëza të zhvilluara mirë, me gjethe të dendura jeshile duke rezultuar me numër mesatar bisqesh (3.7), gjatësi mesatare të bisqeve (2.76 cm), por jo me diferencë nga terrenet e tjera.

Bimëzat e vendosura në terren me pH = 5.8 + pektinë, në aspektin morfologjik paraqiten të zverdhura dhe me prani të majave nekrotike, gjethe të rralla dhe me zhvillim jo të mirë, me forma të zvenitura të bimëzave. Kjo gjë manifestohet në mbështjelljen e gjethëzave me ngjyrë jeshile të errët duke shfaqur kështu dukurinë e vitrifikimit, që pasqyrohet edhe në fazën e rrënjëzimit. Kjo dukuri ka pasoja në proceset e morfogjenezës, pasi shkakton çrregullime metabolike dhe keqformime të bimëzave.

Arsyet e vitrifikimit mund të jenë sasia e ulët e agarit dhe sheqerit ose përqendrimet të larta të joneve amonium (NH_4) apo kalcium (Ca) në terrenin e kulturës. Për të zvogëluar dukurinë e vitrifikimit (Zuccherelli, 1979) u provua zëvendësimi i gjysmës së sasisë të agarit me xhelifikant ngurtësues natyral si pektina.

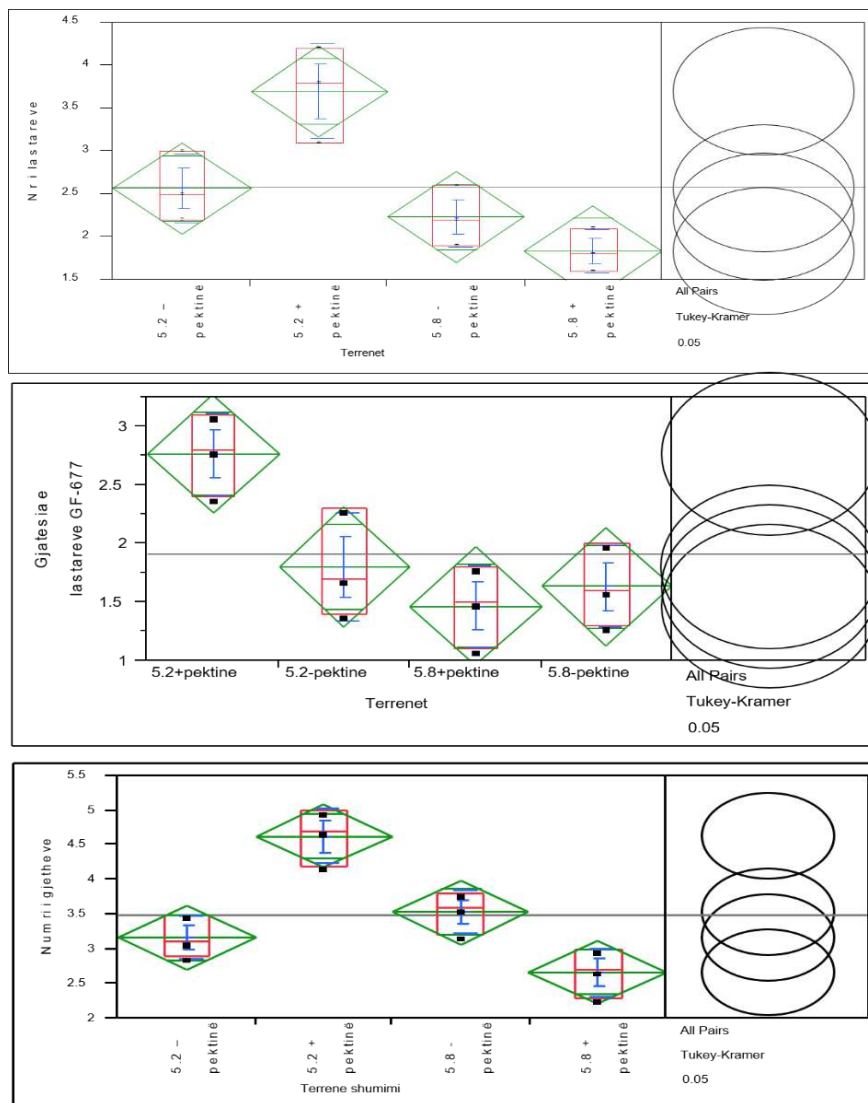


Figura 2.3.1. Bimëza të GF-677 në subkulturë

Vlerësimi i numrit të bisqeve në provën sipas terreneve të modifikuara në fazën e shumimit, tregon se ka ndryshime të vërtetuara statistikisht për nivelin e vërtetësisë $P = 0.05$ (Graf. 2.3.1). Terrenet e modifikuara në fazën e proliferimit me ndryshueshmëri të vërtetuar statistikisht për nivelin e probabilitetit ($P = 0.05$), dhe konkretisht terrenet me $\text{pH } 5.8 \pm$ pektinë për parametrin e numrit të bisqeve janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme 2.5. Referuar Analizës së Variancës mbi vlerësimin e gjatësisë së sytheve në provën sipas terreneve të modifikuara në fazën e proliferimit, ka ndryshime të vërtetuara statistikisht.

Terrenet ($\text{pH } 5.2 -$ pektinë) dhe ($\text{pH } 5.8 +$ pektinë) bazuar në analizën dhe krahasimet e mesatareve për parametrin gjatësi bisqesh, janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme 1.91. Mbi vlerësimin e numrit të gjetheve, në provën sipas terreneve të modifikuara në fazën e proliferimit, tregon se ka ndryshime të vërtetuara statistikisht. Për numrin e gjetheve në bimëzat në

terrenet e provuara: (pH 5.2 – pektinë) dhe (pH 5.8 + pektinë), vlerat janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme 3.5.



Grafiku 2.3.1. Analiza e Variancës një faktoriale boksplotet (variancat, deviacioni standart dhe mesatarja) për efektin e pektinës dhe të pH në parametrat e monitoruar

Në fazën e shumimit, prania e citokininës BAP stimulon zhvillimin e bisqeve dhe frenon formimin e rrënjëve, si inhibitor i fortë i rrënjëzimit. Në studim u

vërejt se bimët në terrene të ndryshme kanë ndryshime morfologjike dhe vlera të ndryshme në tregues biometrikë në fazën e shumimit.

Bimët më të zhvilluara ishin ato të vendosura në terrenin me (pH 5.2 + pektinë), rezultuar nga krahasimi i mesatareve në numër bisqesh (3.7); gjatësi bisqesh (2.76 cm) dhe numër gjethesh (4.63). Terrenet (pH 5.2 – pektinë) dhe (pH 5.8 + pektinë) nuk kanë ndryshime të rëndësishme statistikore bazuar në krahasimin e mesatareve të numrit e gjatësisë së bisqeve. Vlerat e pH (5.0 - 6.0) në terren janë me rëndësi për efektet që mund të kenë në eksplant, në terrenin ushqyes dhe pikën e kontaktit midis eksplantit dhe terrenit. Vlerat e pH^t kontrollojnë zhvillimin e kulturave bimore, si ruajtjen e kripërave në formë të tretshme, përthithjen e përbërësve nga terreni, ndikimin në reaksionet kimike, efikasitetin ngurtësues të agarit.

Diferencimi dhe morfogjeneza janë procese, që varen shumë nga vlera e pH, e cila varion sipas gjenotipeve të ndryshme dhe llojit të kulturës. Në rastin e kultivimit të GF-677 ka rezultuar efikase vlera e pH acid (5.2), pasi mendohet që aciditeti rrit aktivitetin e auksinave endogjene.

Në shumë studime mbi mikroshumimin e nënshartesës GF-677, ka patur shfaqje të dukurisë së vitrifikimit dhe klorozës në bisqe. (Murai *et al.*, 1997; George, 1993; Perez -Tornerio *et al.*, 2000). Rugini & Verma (1983) dhe Ruiz *et al.* (2010) për të shmangur vitrifikimin, përdorën pektinë në terrenin e kulturës MS. Disa kërkues (Elahi *et al.*, 2005) kanë përdorur përveç agarit edhe pektinën në ngurtësimin e terrenit ushqyes në mikroshumimin e *Pyrus communis* L. (Puchooa *et al.*, 1999), kanë studiuar efektin e agjentëve xhelifikues në kultivimin e duhanit. Pektinat ndikojnë në viskozitetin e terrenit ushqyes edhe si burim karboni. Arsyeja e përdorimit të pektinës në terrenin e shumimit është zvogëlimi i dukurisë së vitrifikimit ose hiperhidratimit, që reflektohet me pamje të qelqtë të bimës dhe gjethe të mufatura duke shkaktuar çrregullime metabolike dhe morfologjike si edhe vonesa në zgjatjen e kërcellit.

2.3.2.2. Efekti i pektinës dhe vlerës së pH në rrënjëzimin e eksplanteve

Faza e rrënjëzimit për të gjitha bimët e vendosura në terrene të ndryshme rezultoi e mirë. Në momentin e transferimit në terren rrënjëzimi bimët u ndanë një nga një për të zhvilluar secila në mënyrë të pavarur sistemin rrënjor për 20 ditë (Fig. 2.3.2). Përqendrimi i auksinave AIB e ANA është në dozën

optimale 0.1 mg l^{-1} . Auksina AIB është më e qëndrueshme ndaj dritës dhe ndaj shpërbërjes nga enzimat. Duke krahasuar përkatësisht terrenet me pH 5.2 dhe pH 5.8, shihen diferenca në numër dhe gjatësi rrënjësh (Fig. 2.3.2).



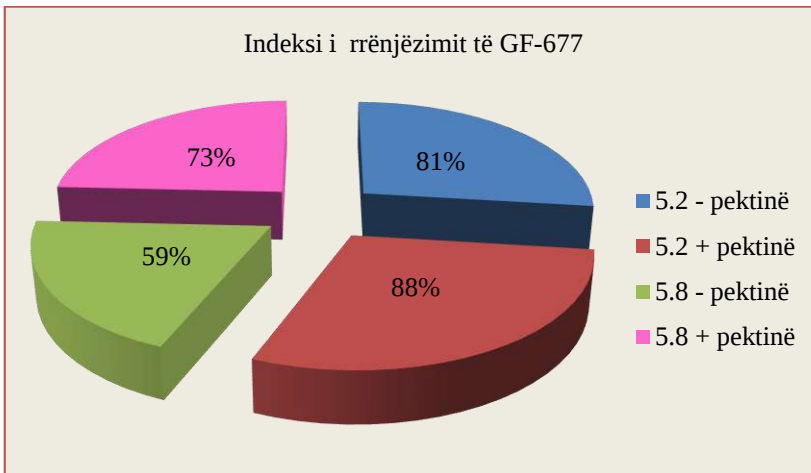
Figura 2.3.2. Bimë të rrënjëzuara të GF 677 sipas terreneve (pH 5.2 dhe pH 5.8)

Përsa i takon përqindjes së rrënjëzimit (88%) dhe numrit të rrënjëve (4.8), kombinimet të cilat dhanë rezultatet më të mira janë tek bimëzat në terrenin me (pH= 5.2 + pektinë). Përsa i takon gjatësisë së rrënjëve nuk ka diferenca në rezultatet e marra në terrenet e provuara (Graf. 2.3.2). Në aspektin vizual bimëzat në terrenin (pH 5.2 + pektinë), ishin më të zhvilluara, të gjata dhe të mëdha, me rrënjëzim të mirë, ndërsa në terrenin (pH 5.8 – pektinë) indeksi i rrënjëzimit të bimëve ishte më i ulët.

Bazuar në tabelën e Analizës së Variancës për (Prob > F), meqë vlera F është më e madhë se vlera teorike P, modeli është sinjifikant për ($P < 0.05$). Në fazën e rrënjëzimit të bimëzave në tre terrenet e kultivuara, rezultojnë disa ndryshime statistikore me të dhënat e krahasuara në parametrat e marrë në studim, për terrenin (pH = 5.2 + pektinë) krahasuar me terrenet e tjera nuk rezultojnë me diferenca thelbësore midis tyre (Graf. 2.3.3).

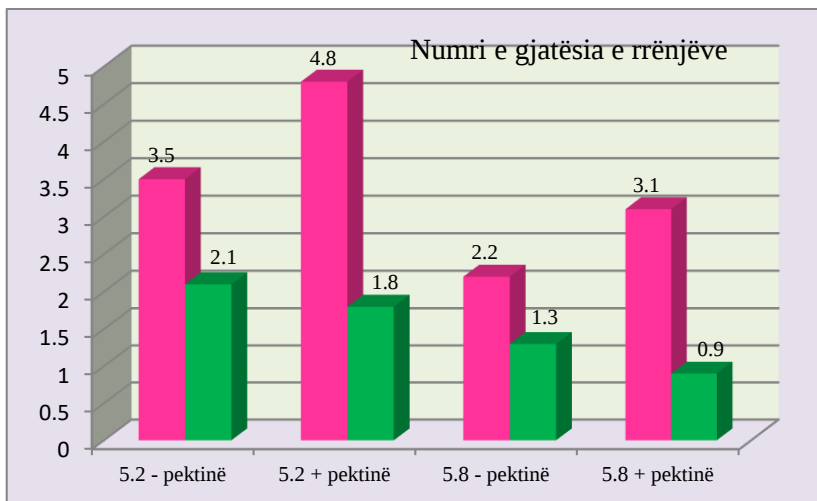
Vlerësimi i **numrit të rrënjëve** në provën sipas terreneve të modifikuara në fazën e rrënjëzimit, tregon se ka ndryshime të vërtetuara statistikisht (Graf. 2.3.4). Vlerat për terrenin (pH 5.8 ± pektinë) për parametrin numër rrënjësh, janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme. Vlerësimi i **gjatësisë së rrënjëve** në provën sipas terreneve të modifikuara në fazën e rrënjëzimit, tregon se ka ndryshime të vërtetuara statistikisht për nivelin e vërtetësisë $P = 0.05$.

Konkretisht terrenet (pH 5.8 ± pektinë) për parametrin gjatësi rrënjësh, janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme 1.55.

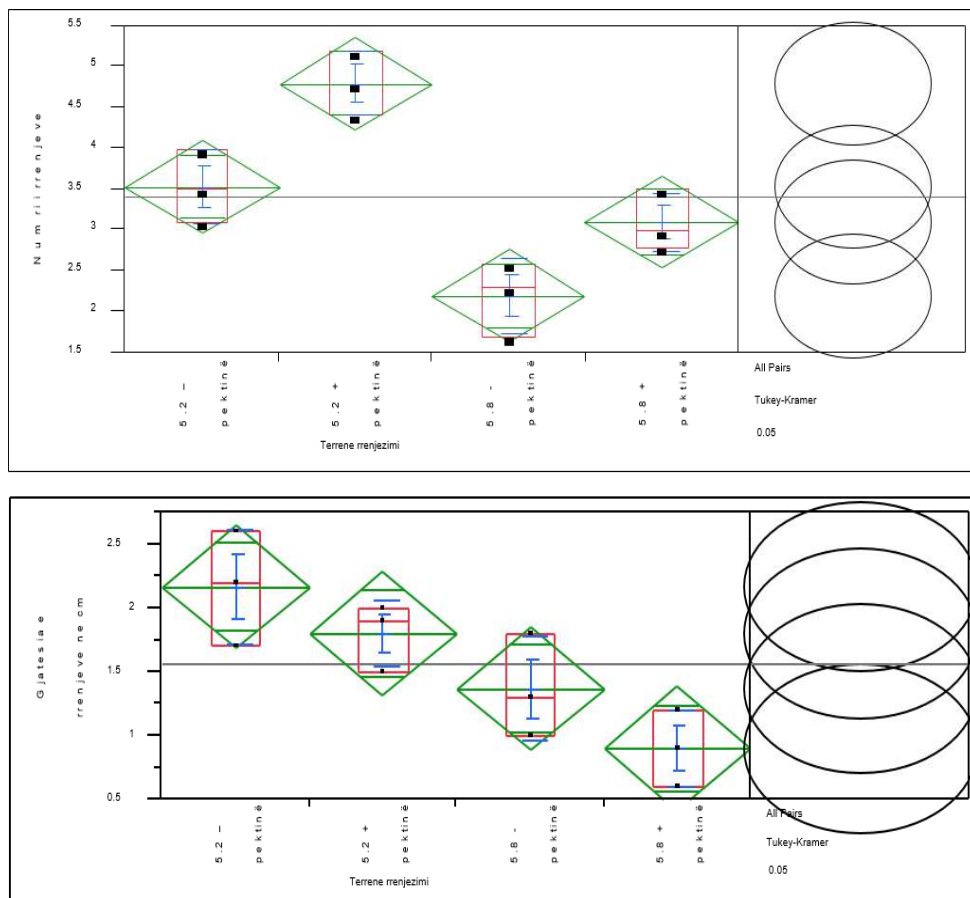


Grafiku 2.3.2. Indeksi i rrënjëzimit të GF-677 sipas terreneve të modifikuara

Abdelahi *et al.* (2005) kanë marrë rezultate të mira në mikroshumimin e disa kultivarëve të dardhës, duke përdorur terren ushqyes të modifikuar të MS me pektinë 0.5% ngurtësuar me agar 0.6% dhe BAP 2 mg^l⁻¹, me qëllim përmirësimin e zhvillimit të bisqeve dhe të masës gjetshore.



Grafiku 2.3.3. Efekti pektinës dhe të pH në parametrat e monitoruar gjatë stadi të rrënjëzimit

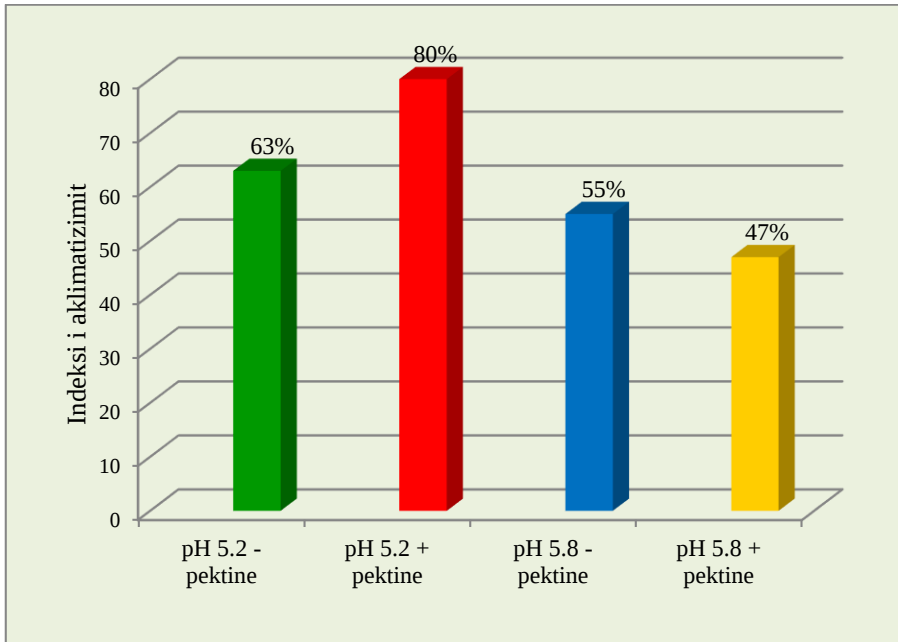


Grafiku 2.3.4. Analiza e variancës një faktoriale për efektin e pektinës dhe të pH^{it} në parametrat e monitoruar gjatë stadit të rrënjëzimit

2.3.2.3. Faza e aklimatizimit

Bimëzat e fituara nga kultivimi *in vitro* kalojnë në kushte *in vivo* që karakterizohet nga intensiteti i lartë ndriçues dhe stresi i lartë ujqor. Bimëzat bëhen autotrofe duke patur burime inorganike, ndriçim të lartë, dioksid karboni dhe ujë. Faza e aklimatizimit konsiderohet si proces delikat.

Mbijetesa e tyre bazohet në procesin e fotosintezës. Indeksi i aklimatizimit rezultoi më i lartë 80% për bimëzat në terrenin (pH 5.2 + pektinë) (Graf. 2.3.5). Terrenet pH (5.2 – pektinë) dhe (pH 5.8 – pektinë) kanë indeks rrënjëzimi të përafërt.



Grafiku 2.3.5.Efekt i pektinës dhe të pH në indeksine aklimatizimit të bimëve sipas terreneve

2.3.3. Përfundime

Në krahasimin e protokolleve të modifikuara me pektinë dhe me ndryshime të vlerave të pH-it në terrenin universal MS, në mikroshumimin e nënshartesës së pjeshkës GF-677, rezultoi se terreni (MS me pH= 5.2 + pektinë), është më i efektshëm në shumimin *in vitro*, bazuar në krahasimin e mesatareve të numrit të bisqeve (3.7); gjatësisë së bisqeve (2.76 cm) dhe numrit të gjetheve (4.63).

Bimët patën zhvillim shumë të mirë pa prani të majave nekrotike dhe pa shfaqur dukurinë e vitrifikimit. Terreni i rrënjëzimit që dha rezultate më të mira në bimët e rrënjëzuara rezultoi terreni (MS me pH 5.2 + pektinë).

Modifikimi i terrenit universal MS me pektinë si lëndë ngurtësuese ndikon në shumimin dhe rrënjëzimin më të mirë të bimëzave të GF-677 me ndikim në uljen e dukurisë së vitrifikimit dhe përmirësim të zhvillimit të bimëve.

2.4. Përcaktimi i përqendrimit të citokininave dhe auksinave në rigjenerimin dhe rrënjëzimin *in vitro* të nënshartesës së pjeshkës GF-677

Hormonet bimore konsiderohen si lëndë organike natyrale ose sintetike që formohen në pjesë të bimës në rolin e "mesazherëve" kimikë, me ndikim të madh nxitës në procese të ndryshme fiziologjike. Fitohormonet janë me rëndësi të madhe në kulturën *in vitro* të specieve drufrutore, sepse janë përgjegjëse në koordinimin dhe rregullimin e metabolizmit, rritjes dhe transmetimit të sinjaleve në bimë, duke vepruar në krijimin e kompleksit hormon/receptor në fillimin e një serie reaksionesh.

Raporti citokininë/ auksinë është përcaktues në rregullimin e morfogjenezës, në kontrollin e dominancës apikale dhe çeljen e sytheve anësorë. Përqendrimet të larta të citokininave stimulojnë zhvillimin e sytheve laterale, ndërsa kur ka sasi të lartë të auksinës, mbizotëron rritja apikale.

Citokininat janë hormone me ndikim specifik në morfogjenezë dhe organogjenezë për shtimin e kulturave bërthamore (Wareing & Phillips, 1970). Zgjedhja dhe përqendrimi i citokininave janë thelbësore për të shmangur stresin oksidativ, që ndikon në efikasitetin e shumimit (Damiano *et al.*, 2002). Përqendrimi i citokininave është përcaktues në suksesin e prodhimit të bisqeve *in vitro* duke ndikuar në stimulimin e ndarjes dhe diferencimit të qelizave në kulturat bimore indore.

2.4.1. Materiali dhe Metoda

Materiali bimore fillestar përzgjidhet nga bisqe të nënshartesës së pjeshkës GF-677, të rritura në kushte *in vitro*. Bisqet janë në aktivitet shumimi me anë të subkulturave në çdo 2-3 javë, të rritura në terren ushqyes MS.

Rigjenerimi in vitro: Për të studiuar efektin e citokininës në fazën e profilerimit është krahasuar ndikimi i përqendrimeve të ndryshme të BAP sipas skemës: 4 variante x 4 përsëritje (0.5 mg l^{-1} ; 1 mg l^{-1} ; 1.5 mg l^{-1} ; 2.0 mg l^{-1}). Provat e përqendrimeve të BAP u realizuan në terrenin MS, që rezulton optimal nga eksperimenti 2.2.

Rrënjëzimi in vitro: Bimëzat e fituara gjatë subkulturave u transferuan në terrenet e rrënjëzimit ku u krahasua efekti i 4 përqendrimeve të auksinës AIB (0.5 mg l^{-1} ; 1 mg l^{-1} ; 1.5 mg l^{-1} ; 2.0 mg l^{-1}).

Enët e kulturës kalohen në dhomën vegjetative në kushte me parametra të kontrolluar 16 orë/dritë, temperaturë $24\pm 1^{\circ}\text{C}$, intensitet ndriçimi 3000-3500 lux.

Tregues biometrikë në fazat e rigjenerimit dhe të rrënjëzimit janë:

- numri dhe gjatësia e bisqeve;
- numri dhe gjatësi e rrënjëve;
- treguesit vizualë në fazat: proliferim dhe rrënjëzim.

2.4.2. Rezultate dhe Diskutime

2.4.2.1. Përqendrimi optimal i citokininës për rigjenerimin *in vitro*

Citokininat stimulojnë ndarjen qelizore duke nxitur citokinezën dhe duke shkaktuar rritje të madhësisë së bërthamave qelizore. Citokininina BAP ndikon në sintezën e disa proteinave, të cilat marrin pjesë në ndërtimin e mureve qelizore dhe në citokinezë duke stimuluar rigjenerimin e sytheve, me rëndësi për proliferimin e indeve bimore. Efekti i citokininave konsiderohet efektiv nëse ato kombinohen me auksina në raporte të ndryshme për të stimuluar rritjen dhe morfogjenezën.

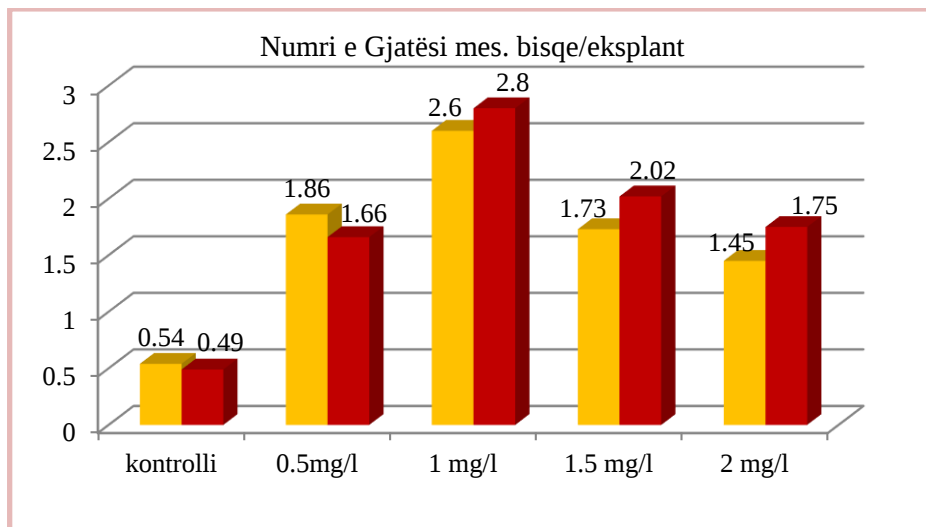
➤ Zhvillimi pas 4 javësh kultivimi

Prova eksperimentale tregon se përqendrimi optimal i BAP rezulton 1mg l^{-1} (Graf. 2.4.1), që paraqitet në vlerat më të larta të numrit të bisqeve (2.6) dhe të gjatësisë së bisqeve (2.8 cm). Duke ndryshuar përqendrime të BAP në vlerat (0.5 mg l^{-1} ; 1 mg l^{-1} ; 1.5 mg l^{-1} ; 2 mg l^{-1}) është evidentuar një ndikim negativ, i pasqyruar në treguesit biometrikë (numri dhe gjatësia e bisqeve) në variantet, kur përqendrime të BAP janë më të larta se 1mg l^{-1} .

Rritja e përqendrimit në vlera më të larta ndikon në uljen e përqindjes së rigjenerimit të GF-677. Kjo dukuri shpjegohet me faktin se përqendrime të larta të citokininave në terrenin ushqyes stimulojnë formimin e sytheve të vegjël, të cilët frenojnë zhvillimin e tyre të mëtejshëm në kulturë *in vitro*.

Të dhënat e provave tona mbi ndikimin e citokininave dhe të auksinave në mikroshumimin e GF-677 u përpunuan statistikisht me anë të analizës së variancës (ANOVA), testi Tukey-Kramer mbi vërtetësinë e provave për variantet në studim.

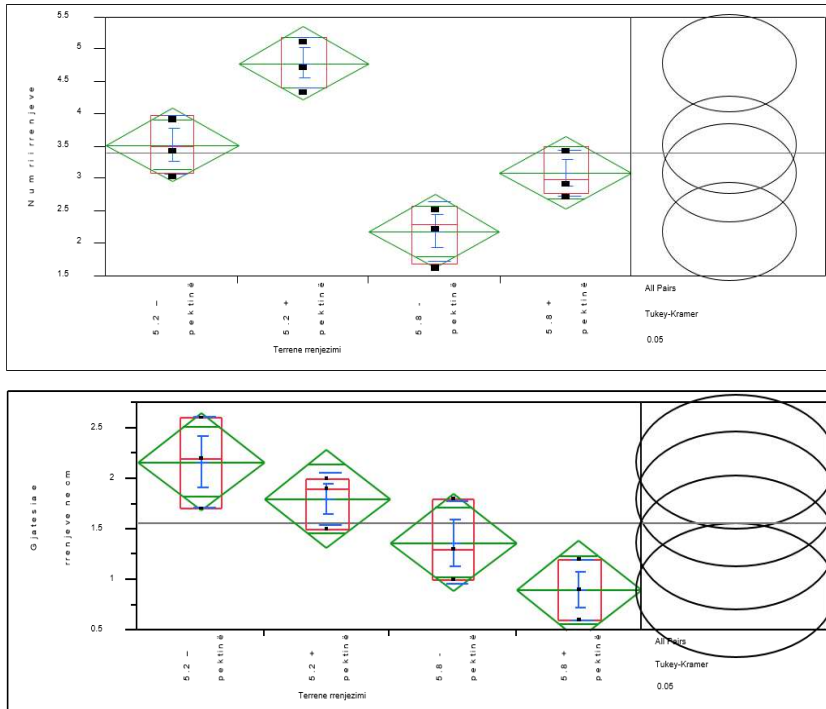
Vlerësimi i numrit dhe gjatësisë mesatare të bisqeve bazuar në analizën e variancës një faktoriale (ANOVA), në provën sipas përqendrimeve të ndryshme të BAP në fazën e inokulimit pas 4 javësh, tregon se ka ndryshime të vërtetuara statistikisht për nivelin e vërtetësisë ($P = 0.05$) sipas testit Tukey-Kramer.



Grafiku 2.4.1. Numri dhe gjatësia e bisqeve sipas përqendrimeve të citokininës BAP pas 4 javësh zhvillimi

Analiza dhe krahasimet e mesatareve (Pasqyra 2.4.1) për variantet e studiuar për diferencën më të vogël të vërtetuar $Lsd = 3.29108$, i rendisin trajtimet me përqendrime të ndryshme të BAP në fazën e inokulimit, në klasa të ndryshme që përfaqësohen me gërma të ndryshme, ku ndikimi i dozave të BAP kanë ndryshueshmëri të vërtetuar statistikisht për nivelin e probabilitetit ($P = 0.05$) sipas Fisherit për ($Prob. > F$).

Ndryshimet pasqyrohen në boksplotet (variancat, deviacioni standard dhe mesatarja) (Graf. 2.4.2), ku dozat e ndryshme të BAP, që paraqesin ndryshueshmëri janë me rrathë blu dhe konkretisht, përqendrimi i citokininës BAP 2 mg l^{-1} dhe varianti kontroll për parametrin numër bisqesh janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme 1.63. Ndryshimet e paraqitura në boksplote tregojnë se përqendrimi i BAP 0.5 mg l^{-1} dhe varianti kontroll për parametrin gjatësi bisqesh janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme (1.74).



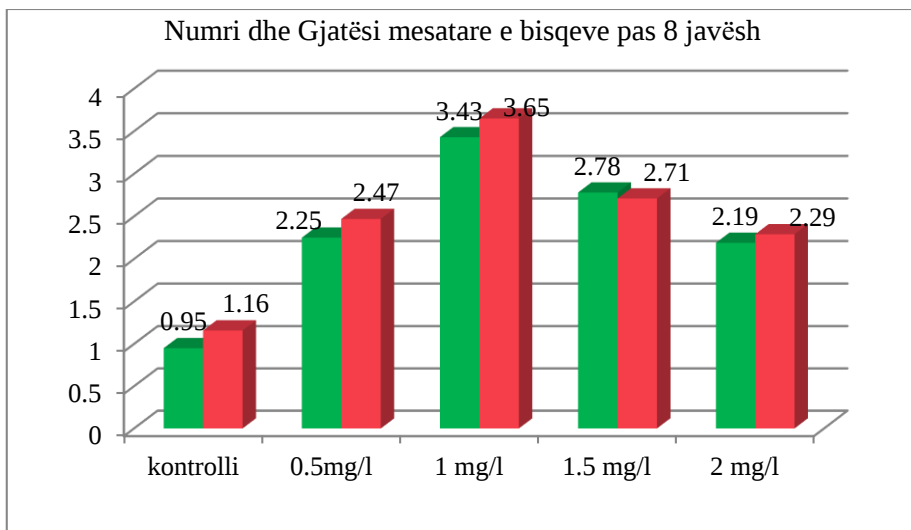
Grafiku 2.4.2. Boksplotet (variancat, deviacioni standard dhe mesatarja) për numrin e bisqeve dhe gjatësinë e tyre sipas përqendrimeve (mg l^{-1}) të BAP pas 4 javësh zhvillimi

➤ Zhvillimi pas 8 javësh kultivim

Pas 8 javësh u realizuan matjet e treguesve biometrikë në bimëzat e subkulturuar, që treguan ndryshime të rëndësishme sipas përqendrimeve të citokininës BAP në terrenin ushqyes MS.

Referuar analizës së variancës (ANOVA) mbi vlerësimin e numrit dhe të gjatësisë mesatare të bisqeve (Graf. 2.4.3) në provën sipas përqendrimeve të BAP në fazën e subkulturës, rezulton se ekzistojnë ndryshime të vërtetuara statistikisht për nivelin e vërtetësisë $P = 0.05$ sipas Fisherit për ($\text{Prob.} > F$) (Graf. 2.4.4). Duke krahasuar vlerat mesatare të numrit dhe gjatësisë së bisqeve në bimët e mikroshumuara, për variantet e studiuar për diferencën më të vogël të vërtetuar $\text{Lsd} = 3.29108$, del se trajtimet me përqendrime të ndryshme të BAP paraqesin ndryshueshmëri.

Sipas boksploteve, përqendrimet e BAP (0.5 mg l^{-1} ; 2 mg l^{-1}) dhe varianti kontroll për parametrin e numrit të bisqeve, paraqiten nën vlerën e mesatares së përgjithshme (2.32).

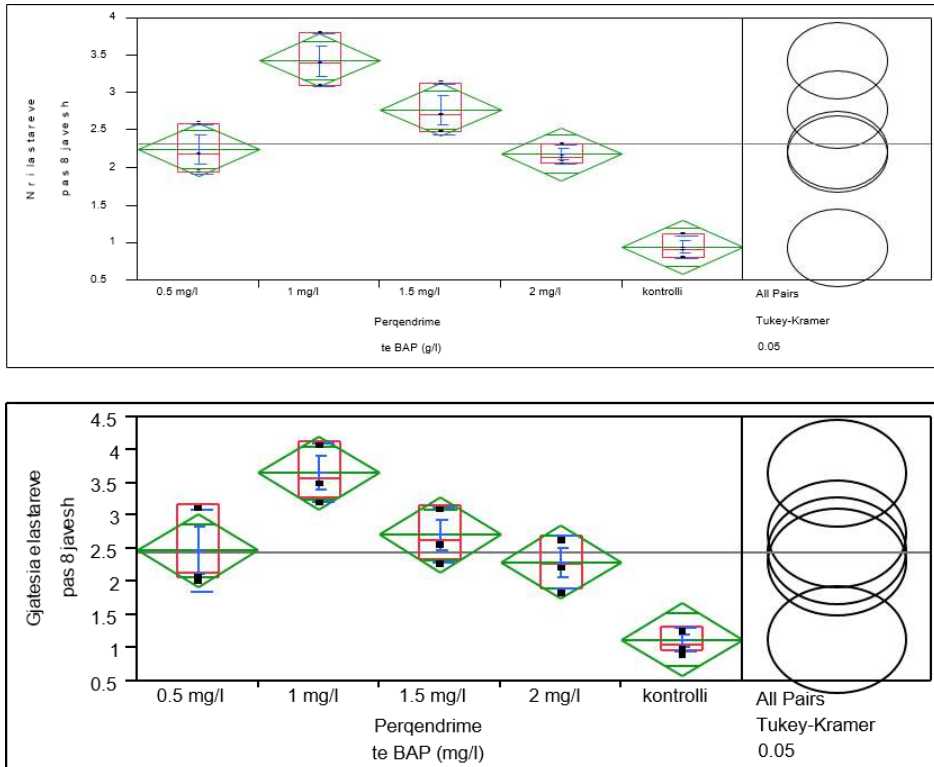


Grafiku 2.4.3. Numri dhe gjatësia e bisqeve sipas përqendrimeve të BAP pas 8-javësh zhvillimi në subkulturë

Përsa i takon parametrin të gjatësisë së bisqeve paraqitur në boksplote, përqendrimi i BAP 2 mg l^{-1} dhe varianti kontroll janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme (2.44) (Graf. 2.4.4).

Ndikimi i citokininës BAP shpjegohet me faktin se citokininat stimulojnë dhe nxisin ndarjen qelizore, formimin e sytheve anësore, kërcejve, dhe gjetheve (Dobranszki & Silva, 2010). Proliferimi dhe zgjatja e sytheve stimulohet gjithashtu nga kombinimi i citokininës BAP me auksinën ANA 0.1 mg l^{-1} (Damiano *et al.*, 2008). Autorë të tjerë (Pernisova *et al.*, 2009) kanë raportuar se citokininat luajnë një rol integral në aktivitetin e organ-formues të auksinave.

Ndërveprimi mes përbërjes së terrenit dhe citokininës BAP ka sinjifikancë $P \leq 0.05$ për numrin e bisqeve për eksplant. Pas 8 javësh zhvillimi në subkulturë, për parametrin mesatar të numrit të bisqeve (3.43) dhe të gjatësisë së bisqeve (3.65 cm) fitohen rezultate të larta në variantin me përqendrim të BAP (1 mg l^{-1}).



Grafiku 2.4.4. Boksplotet (variancat, deviacioni standard dhe mesatarja) për numrin e bisqeve dhe gjatësinë e tyre sipas përqendrimeve (mg l^{-1}) të BAP pas 8 javësh zhvillimi

Ky rezultat tregon se ka një korrelacion pozitiv mes përqendrimit të BAP dhe numrit të bisqeve në një përqendrim të caktuar (1mg l^{-1}). Rezultate të ngjashme kanë raportuar edhe disa autorë (Šiško *et al.*, 2022) në mikroshumimin e kajsisë (*Prunus armeniaca* L.) në arritjen e rezultateve më të mira në formimin e bisqeve me përqendrim të BAP 1mg l^{-1} .

Në variantet me përqendrimet më të larta të BAP (1mg l^{-1}), vëzhgohet pakësim i numrit të bisqeve. Arsyeja mund të jetë efekti negativ i përqendrimeve të larta të BAP, që mund të shkaktojnë formimin e kallusit në kulturat indore.

Garoosi *et al.* (2010) kanë marrë rezultate të larta në proliferimin e GF 677 në terren GNH me BAP 0.5mg l^{-1} . Özden *et al.* (2011) raportojnë rezultate të ngjashme në mikroshumimin e GF 677 në terren MS me 0.1mg l^{-1} BAP.

Sota, (2012) ka fituar rezultate optimale në mikroshumimin e species *Prunus mahaleb* L. dhe *Prunus avium* L. në terrenin MS me kombinim të hormoneve (BAP 0.3 mg l^{-1} ; AIB 0.1 mg l^{-1} ; GA₃ 0.3 mg l^{-1}). Rezultate të ngjashme (Tabachnik & Kester, 1977; Kamali *et al.*, 2001; Moghaddam & Yadollahi, 2012) janë raportuar për mikroshumimin e sytheve të GF-677 në terren MS me BAP (1 mg l^{-1}). Punime të ngjashme për mikroshumimin e gjinisë *Prunus* kanë raportuar dhe autorë të tjerë (Yildirim *et al.*, 2009; Welander, 1985; Saponari *et al.*, 1999).

Ahmad *et al.* (2003) raporton numrin më të lartë bisqeve për GF 677 në përqendrime të BAP (0.6 mg l^{-1}). Kadota *et al.* (2003) ka studiuar efektin e përqendrimit të citokininave në proliferimin *in vitro* të kultivarëve të dardhës në dozën më të mirë të BAP $4.4 \mu\text{M}$.

Me rritjen e përqendrimit të BAP më shumë se 1 mg l^{-1} në terrenin e kulturës shfaqen efekte frenuese, të cilat shkaktojnë reduktimin e numrit të sytheve dhe uljen e përqindjes së proliferimit të bisqeve (De Oliveira *et al.*, 2010).

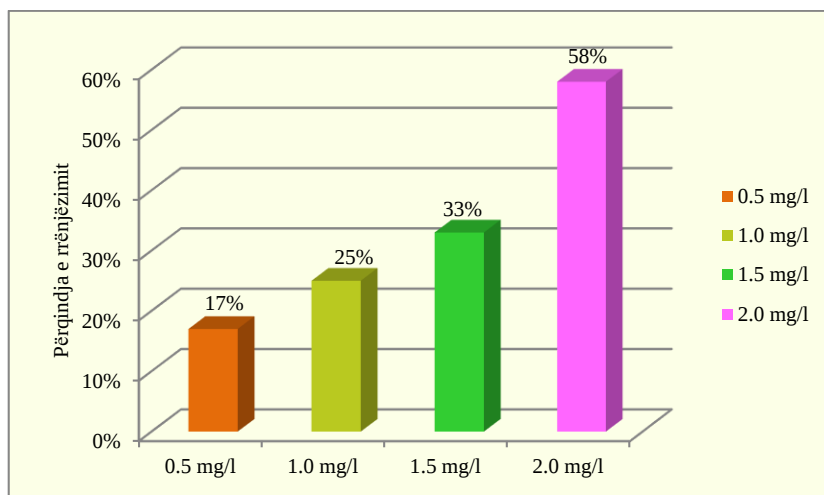
Autorë të tjerë (Gerdakaneh *et al.*, 2020) në studimet e tyre kanë raportuar optimizimin e metodave të mikroshumimit të GF-677, në arritjen e rezultateve më të mira në proliferimin e numrit të bisqeve (2.44) në terren WPM me BAP (1 mg l^{-1}).

2.4.2.2. Faza e rrënjëzimit

Pas rezultateve pozitive të ndikimit të përqendrimit optimal të citokininave në fazën e proliferimit, u realizua eksperimenti për fazën e rrënjëzimit me përqendrime të ndryshme të hormonit auksinë AIB, që stimulon zhvillimin e sistemit rrënjor. Formimi dhe zhvillimi i rrënjëve adventive i detyrohet veprimit të hormoneve bimore.

Vlerësimi i **numrit dhe gjatësisë mesatare të rrënjëve** (Graf. 2.4.5) bazuar në analizën e variancës (ANOVA) në eksperimentin sipas përqendrimeve të AIB në fazën e rrënjëzimit, tregon se fitohen ndryshime të rëndësishme të vërtetuara statistikisht për nivelin e vërtetësisë $P = 0.05$ sipas testit Tukey-Kramer.

Duke krahasuar vlerat e mesatareve për variantet e studiuar për diferencën më të vogël të vërtetuar $Lsd = 3.29108$, rezulton se trajtimet me përqendrime të ndryshme paraqesin dallime. Vlerat e varianteve me përqendrim të AIB (0.5 mg l^{-1}) dhe varianti kontroll për parametrin e numrit të rrënjëve janë nën vlerën e mesatare së përgjithshme 2.12 (Graf. 2.4.6).

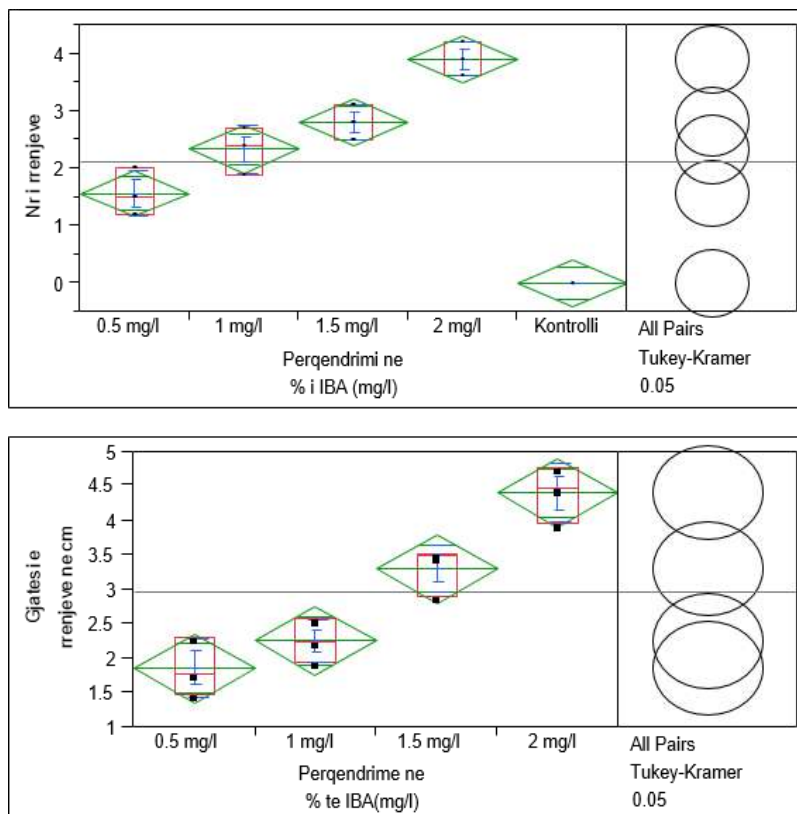


Grafiku 2.4.5. Ndikimi i dozave të ndryshme të auksinës AIB në rrënjëzimin e bimëzave të GF- 677

Ndërsa për parametrin e gjatësisë së rrënjëve, vlerat për përqendrimet e AIB (0.5 mg l^{-1} ; 1 mg l^{-1}) janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme 2.95. (Graf. 2.4.5). Procesi i rizogjenezës zgjat 20 ditë pas kultivimit të eksplanteve në terren rrënjëzimi. Në fazën e rrënjëzimit në bazë të Analizës së Variancës, testi Tukey-Kramer rezultojnë diferenca të rëndësishme statistikore (Graf. 2.4.6; 2.4.9) për variantet me përqendrimet të ndryshme të AIB-së në parametrat e mesatareve të numrit të rrënjëve (3.9) dhe gjatësisë së rrënjëve (4.3 cm).

Bimëzat e variantit kontroll rezultojnë të parrënjëzuara. Indeksi i rrënjëzimit më i lartë arrihet në variantin me përqendrim të auksinës AIB (2 mg l^{-1}), duke rezultuar si vlerë optimale krahasuar me vlerat e përqendrimeve të tjera.

Aftësia e indeve bimore për të rrënjëzuar varet nga një kompleks faktorësh të brendshëm dhe të jashtëm. Ndikimi i auksinave është i ndryshëm në specie edhe brenda varieteteve të ndryshme të një specie.



Grafiku 2.4.6. Bokspotet (variancat, deviacioni standard e mesatarja) për parametrat e monitoruar në rizogjenezë sipas përqendrimeve (mg l^{-1}) të AIB

Rezultatet të ngjashme kanë raportuar edhe studiues të tjerë (Ak *et al.*, 2021) në rrënjëzimin e nënshartesës “Garnem” në terren MS me përqendrim të AIB (2 mg l^{-1}). Garoosi *et al.* (2010) kanë marrë rezultate të ngjashme në proliferimin e GF- 677 në terren GNH me AIB 2 mg l^{-1} .

Rezultate të kënaqshme kanë arritur (Rama & Pontikiss, 1990; Vujovic *et al.*, 2012) në rrënjëzimin e nënshartesës së mollës M9.

Rezultate të ngjashme në rrënjëzimin e GF-677 kanë raportuar dhe autorë të tjerë (Fasolo *et al.*, 1987; Sepahvand *et al.*, 2012) në përqendrime të AIB (2 mg l^{-1}). Autorë të tjerë (Ahmad *et al.*, 2003; Moghaddam & Yadollahi, 2012) kanë raportuar indekse të larta rrënjëzimi të GF-677 me përqendrim të AIB (3 mg l^{-1}) në terren MS. (Sota, 2012; Shatnawi *et al.*, 2007) kanë arritur

rezultate pozitive në rrënjëzimin e species *Prunus avium* L. Olate *et al.* (2009) kanë fituar indekse të larta në rrënjëzimin e sytheve të *Junglas regia* L. me auksinë AIB. Dobranszki & Silva, (2010) raportojnë se veprimi i auksinave ekzogjene ndikon në stimulimin dhe formimin e rrënjëve të reja.

Vaez-Livari & Salehi- Soghadi, (2005) kanë fituar rezultate të larta në fazën e rrënjëzimit në përqendrime të AIB (0.5 mg l^{-1}), por dhe me ndryshime të fotoperiodës.

2.4.3. Përfundime

Duke analizuar të dhënat eksperimentale arrihet në këto përfundime:

- Në stadet e proliferimit të eksplanteve të GF-677, numri i lartë i sytheve anësore arrihet në variantet me përqendrim të BAP (1 mg l^{-1}), që stimulon rritjen dhe morfogjenezën;
- Në fazën e rrënjëzimit të bimëzave të GF-677, indeksi i rrënjëzimit më i lartë arrihet në variantin me përqendrim të auksinës AIB (2 mg l^{-1}), që konsiderohet si vlerë optimale krahasuar me indeksin në përqendrime të tjera.

2.5. Ndikimi stinor në mikroshumimin e nënshartesës së pjeshkës GF-677

Gjendja fiziologjike e bimës nga merren eksplantet është faktor shumë i rëndësishëm në mikroshumimin e bimëve, pasi lidhet me strukturën anatomike, përbërjen kimike dhe hormonale të materialit bimor. Kërkues të ndryshëm kanë eksperimentuar mbi këtë ndikim për specie të ndryshme duke përfshirë dhe nënshartesën GF-677. Ndikimi i stinës në nivelin e shtimit të kulturave *in vitro* të nënshartesës së pjeshkës GF-677 u eksperimentua në faza të ndryshme të vegjetacionit.

2.5.1. Materiali dhe Metoda

Bisque me një syth (1-2 cm) merren nga copat në degë një-vjeçare të bimëve “mëmë” të nënshartesës GF-677 (*Prunus persica* x *P. amygdalus*). Eksplantet sterilizohen me NaOCl 0.5% për 20 min dhe më pas shpëlohen tri herë me ujë të distiluar dhe të sterilizuar. Bisqet mbillen vertikalisht në vazo kulture me

terrenin ushqyes MS, me shtesa të GA_3 0.1 mg l^{-1} , ANA 0.1 mg l^{-1} dhe sakarozë 30 g l^{-1} . Rregullohet pH në vlerën 5.6 para se të shtohet 7.0 g l^{-1} agar. Citokinina BAP në dozën 1 mg l^{-1} përdoret në fazën e shumimit dhe AIB 0.1 mg l^{-1} në fazën e rrënjëzimit.

Për të eksperimentuar ndikimin e stinës në nivelin e shumimit për kulturat *in vitro* të nënshartesës së pjeshkës GF-677, përdoren eksplante- sythe, që merren dhe kultivohen në data të ndryshme gjatë stinëve të rritjes, përkatësisht: 24 mars; 20 prill; 18 maj dhe 15 shtator.

Të dhënat mbi ndikimin e stinës në shumimin e bimëve në analizën e treguesve biometrikë (numrin dhe gjatësinë e bisqeve për bimë) shënohen katër javë pas inokulimit, ndërsa numri dhe gjatësia e rrënjëve për bimë maten tre javë pas mbjelljes së bisqeve për rrënjëzim.

Eksperimenti me nënshartesën e pjeshkës GF-677 kryhet në bllok të randomizuar dhe të dizenuar për (10 bimë për trajtim x 4 përsëritje).

Të dhënat analizohen në mënyrë statistikore me analizën e variancës (ANOVA), testi Tukey- Kramer.

2.5.2. Rezultate dhe Diskutime

2.5.2.1. Efekti i stinës në rigjenerimin *in vitro* të sytheve

Në periudha të ndryshme të marrjes së eksplanteve janë analizuar treguesit biometrikë në fazat e proliferimit e të formimit të bisqeve të GF-677.

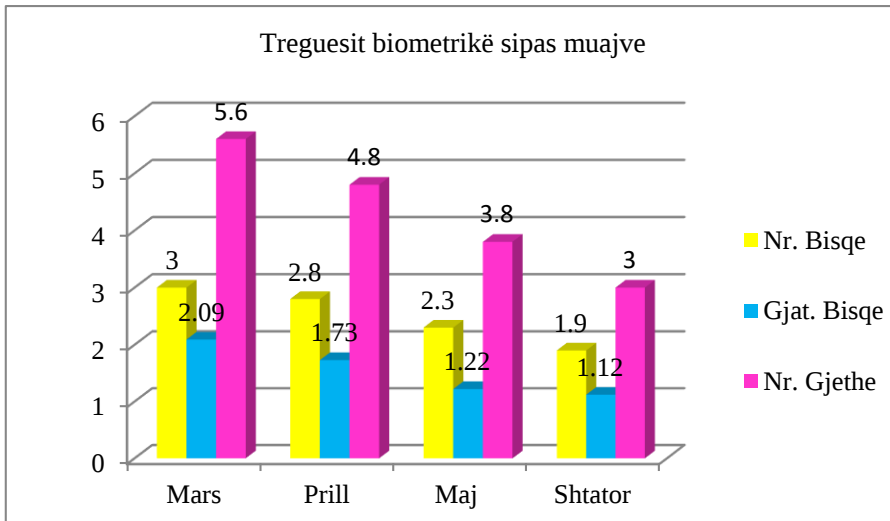
Numri mesatar më i lartë i bisqeve (3) rezulton në bimëzat e marra në muajin mars (Fig. 2.5.1), ku si eksplante janë eksperimentuar bisqe *in vitro* dhe çelja e sytheve është provokuar në dhomën klimatike të rritjes së bimëve.

Rezulton se nuk vërehet ndryshim i madh me numrin e bimëve të inokuluara në pranverë (2.8). Numri mesatar më i ulët i bisqeve për bimë u vrojtua në fund të pranverës (2.3) dhe në vjeshtën e hershme (1.9) (Graf. 2.5.1).

Nivelet e larta të lëndëve të rritjes dhe sasi të ulëta të frenuesve të rritjes në bisqet që po rriten gjatë pranverës, mund të jenë faktorë për shtimin dhe proliferimin e lartë të bimëzave. Për parametrin gjatësi e bisqeve, nuk ka ndryshime të theksuara midis bimëzave të periudhave të ndryshme të inokulimit të eksplanteve të GF-677.



Figura 2.5.1. Bimëza të GF-677 në fazën e proliferimit



Grafiku. 2.5.1. Treguesit biometrikë sipas muajve të inokulimit

Vlerësimi i **numrit dhe gjatësisë mesatare të bisqeve** të GF-677 (Fig. 2.5.1), bazuar në Analizën e Variancës në provën sipas periudhave të inokulimit të eksplanteve tregon se ekzistojnë ndryshime të vërtetuara statistikisht për nivelin e vërtetësisë $P = 0.05$ sipas testit Tukey-Kramer.

Vlerat e bimëzave të inokuluara në pranverën e vonshme (maj) dhe në vjeshtën e hershme (shtator) për parametrin numër bisqesh, janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme 2.54 (Graf. 2.5.2), ndërsa vlerat e mesatare të

gjatësisë së bisqeve rezultojnë me ndryshueshmëri dhe konkretisht, vlerat e fituara nga pranvera e vonshme (maj) dhe vjeshta e hershme (shtator) janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme (1.54) (Grafiku 2.5.2).

Për sa i takon **numrit të gjetheve**, analiza e variancës mbi vlerësimin e numrit mesatar të gjetheve të bimëzave të GF-677, në eksperimentin sipas periudhave të inokulimit të eksplanteve, tregon se ekzistojnë ndryshime të vërtetuara statistikisht për nivelin e vërtetësisë ($P = 0.05$).

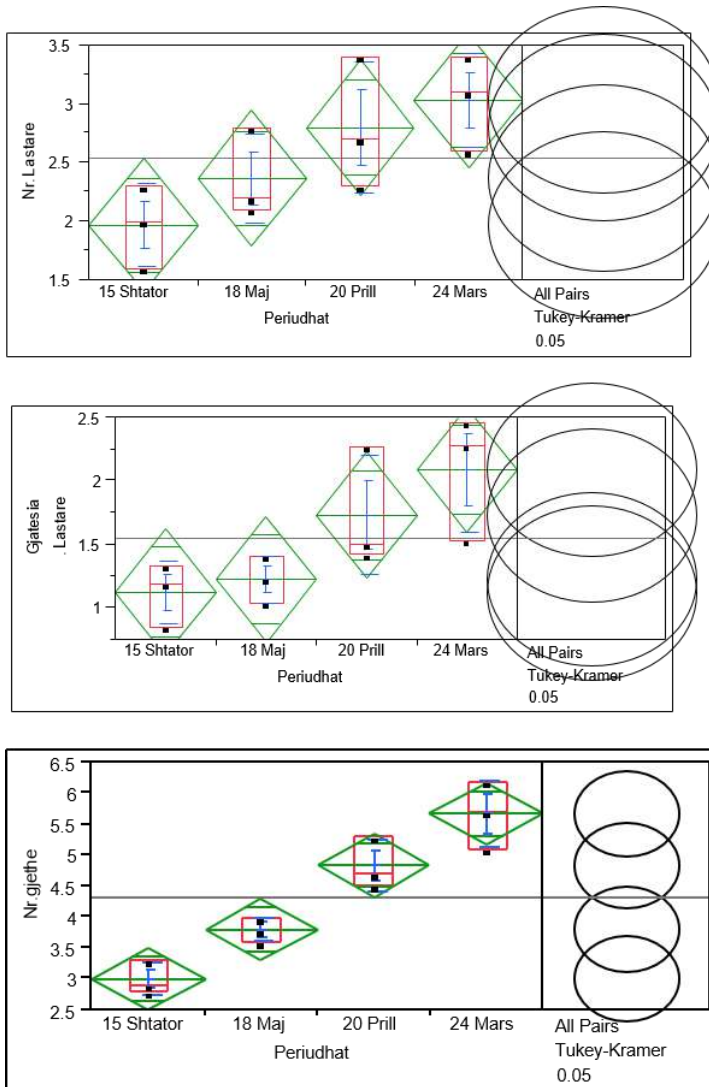
Krahasimet e mesatareve për variantet e studiuara, tregojnë se vlerat për periudhat e inokulimit të eksplanteve kanë ndryshueshmëri të vërtetuar statistikisht dhe vlerat për muajt e pranverës (maj) dhe vjeshtë të hershme (shtator) për parametrin numër gjethesh, janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme (4.3) (Graf. 2.5.2).

Analiza statistikore (testi Tukey-Kramer) e të dhënave të marra në fazën e proliferimit të bimëzave tregon ndryshime statistikore për treguesit biometrikë (numri dhe gjatësia mesatare e bisqeve), por jo të theksuara duke krahasuar kapacitetet për rrënjëzimin e bisqeve gjatë muajve mars dhe prill me vlerat e fituara nga proliferimi i bisqeve në muajt maj dhe shtator.

Ndryshime statistikore rezultojnë për vlerat e parametrin të numrit mesatar të gjetheve në rritjen e masës gjethore, evidentuar më shumë në proliferimin në muajt mars dhe prill, krahasuar me ato në periudhat e tjera. Ndryshimet e rezultuara për $Lsd = 3.20234$, vërtetojnë se për treguesit biometrikë të GF-677, rezultatet më të mira u arritën për proliferimin në muajt mars dhe prill.

Eksplantet e izoluar në muajin mars, çelja e të cilave u realizua në dhomën klimatike, pra të prejardhura nga bimëzat *in vitro*, sipas shumë studiuesve zotërojnë aftësinë e ri-juvenilitetit të induktuar në kulturë *in vitro* duke bërë që sythet apo bimëzat të rimarrin disa karakteristika fenotipike të fazës juvenile të rritjes, si përmasë gjethore më të vogël dhe aftësi të lartë për të formuar rrënjë adventive.

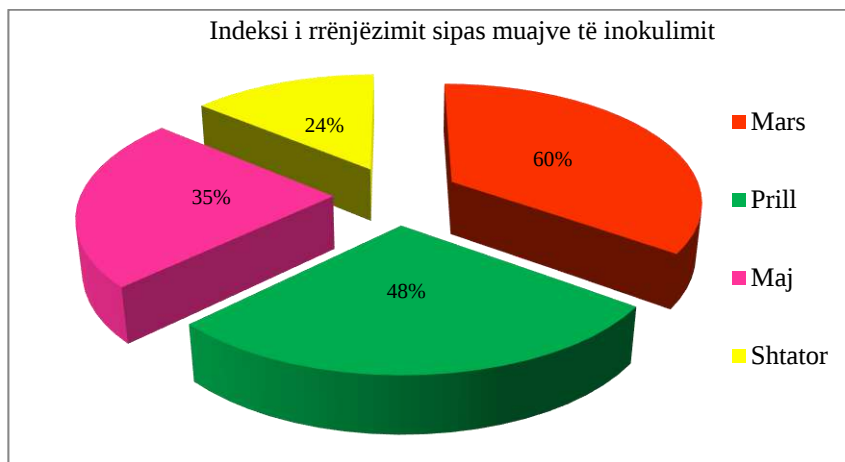
Në bimëzat e mikroshumuara vihen re tipare të juvenilitetit, që do të thotë se cilësi të veçanta të tyre kontrollohen në mënyrë të pavarur nga njëra tjetra (Sota & Kongjika, 2013). Eksplantet e izoluar në muajin prill si kohë vegjetacioni dhe gjatë rritjes së re të bimëve, rezultojnë me aftësi më të mirë në proliferim. Sa më juvenil, i fuqishëm dhe i shëndetshëm të jetë eksplanti, aq më e lartë është përgjigja e tij organogjenike në kulturë *in vitro*.



Grafiku 2.5.2. Boksplotet që tregojnë efektin e sezonit në parametrat biometrikë të monitoruar gjatë rigjenerimit *in vitro*

2.5.2.2. Efekti i stinës në rrënjëzimin e sytheve

Rrënjëzimi optimal arrihet në bimëzat e marra në muajin mars me përqindje rrënjëzimi (60%) dhe në muajin prill (48%) (Graf. 2.5.3), si periudha më të mira të vegjetacionit të bimëve. Bazuar në analizën e variancës është bërë përpunimi statistikor i të dhënave për numrin dhe gjatësinë mesatare të rrënjëve të bimëzave të GF-677 në fazën e rrënjëzimit.



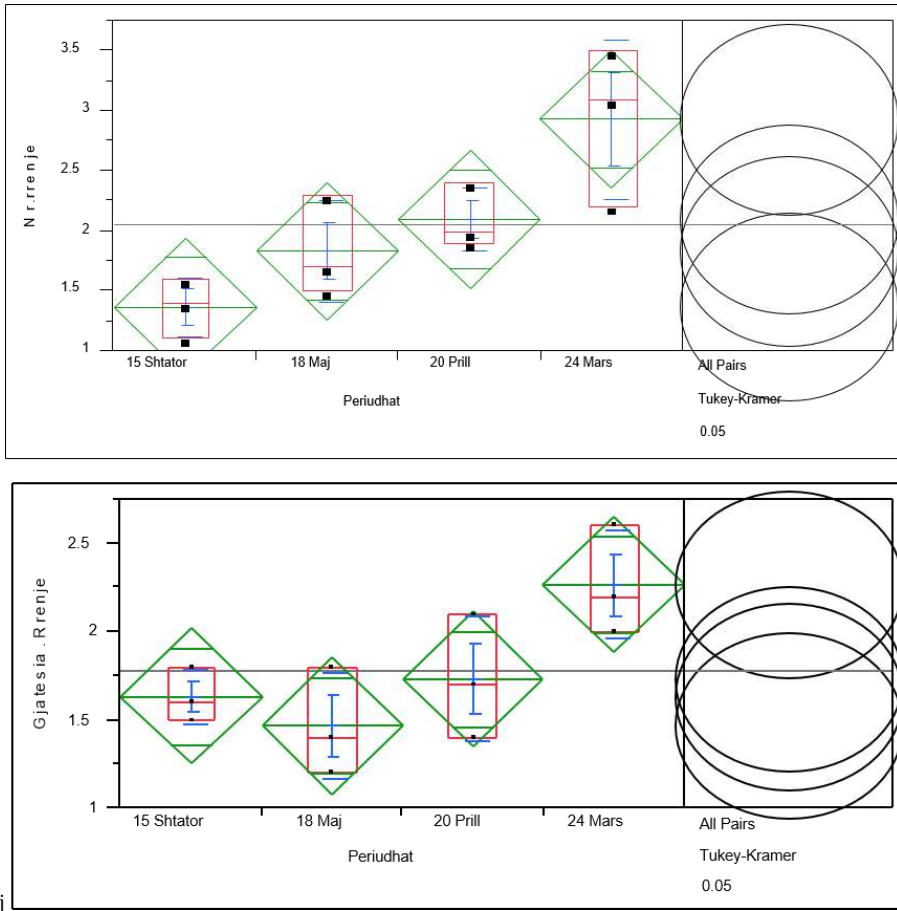
Grafik 2.5.3. Përqindja e rrënjëzimit sipas periudhave të inokulimit të bimëzave

Vlerësimi i **numrit dhe i gjatësisë të rrënjëve** të bimëzave të GF-677, bazuar në Analizën e Variancës, në eksperimentin sipas periudhave të ndryshme të inokulimit të eksplanteve, tregon se ekzistojnë ndryshime të vërtetuara statistikisht për nivelin e vërtetësisë $P = 0.05$.

Krahasimet e mesatareve për variantet e studiuara për diferencën më të vogël të vërtetuar $Lsd = 3.20234$, i rendisin vlerat e ndikimit të periudhave të ndryshme të inokulimit të eksplantëve në parametrat e bimëzave në fazën e rrënjëzimit, në klasa të ndryshme.

Këto ndryshime ilustrohen në (Graf. 2.5.4), ku vlerat sipas periudhave të ndryshme kanë ndryshueshmëri dhe konkretisht, ato të muajit të pranverës së vonët (maj) dhe të vjeshtës së hershme (shtator) për parametrin numër rrënjësh, janë nën vlerën e mesatare së përgjithshme (2.05).

Këto ndryshime për parametrin gjatësi rrënjësh, ilustrohen në (Graf. 2.5.4), ku vlerat për periudhat, përveç muajit shkurt, nuk kanë ndryshueshmëri të theksuar të vërtetuar statistikisht për nivelin e probabilitetit ($P=0.05$). Konkretisht, vlerat për muajt e pranverës së vonshme (maj, prill) dhe të vjeshtës së hershme (shtator) janë nën vlerën e mesatare së përgjithshme (1.77). Ndryshimet e rezultuara për $Lsd = 3.20$ vërtetojnë se për parametrat e studiuar të treguesve biometrikë të bimëzave të GF-677, rezultatet më të mira arrihen në rastin e inokulimit në muajt mars dhe prill.



Grafiku 2.5.4. Boksplotet që tregojnë efektin e stinës në parametrat biometrikë të monitoruar gjatë rrënjëzimit

Kjo shpjegohet me faktin se eksplantet nga pjesët vegjetative rigjenerohen më shpejt se ato të pjesëve gjenerative, pjesët juvenile më mirë se ato adulte. Sythet që merren nga bimë në aktivitet rritjeje në pranverë (muaji-prill), janë në gjendje më juvenile, më të fuqishme dhe më të shëndetshme dhe përgjigja organogjenike në kulturë *in vitro* është më e lartë.

Rritja e aftësisë rrënjëzuese për eksplantet e marrë në muajin mars (eksplante *in vitro*) është tregues i tiparit të ri-juvenilizimit. Sythet e mikroshumuara rrënjëzojnë më mirë se kalemrat nga bima donore “mëmë”.

2.6. Ndikimi i faktorëve endogjenë rrënjëzues të majave të rritjes të nënshartesës së pjeshkës GF-677 me anë të bioprovës në fasulen e gjelbër (*Phaseolus aureus*)

Bimët kanë një spektër të gjerë të diversitetit strukturor me përbërje të komponimeve aktive biologjike të pranishme në pjesë të ndryshme të bimës si gjethe, rrënjë, fara, lule etj. Njihet roli i rregullatorëve të rritjes si fitohormone konvencionale në proceset fiziologjike me ndikim në kapacitetin rrënjëzues të bimëve. Ka disa studime të pakta mbi përdorimin e ekstrakteve bimore në kulturat indore me efekte pozitive në zhvillimin dhe përmirësimin e bimëve në proceset e mikroshumimit dhe konservimit me rritje të ngadaltë (Hammond *et al.*, 2019).

Në këtë eksperiment është provuar me anë të bioprovës në fasulen e gjelbër (*Phaseolus aureus*) prania e faktorëve rrënjëzues në ekstraktet e majave të rritjes të bimëve të GF-677 dhe në eksperimentet vijuese është provuar bashkëveprimi i këtyre ekstrakteve me fitohormonet në proliferimin dhe rrënjëzimin e bimëzave.

Në majën e rritjes së biskut në zhvillim realizohet sinteza e auksinave, të cilat janë përgjegjëse për zhvillime të caktuara morfogjenike. Në një moment të caktuar, maja e rritjes mund të ketë sasi të tillë auksine që mund të ndikojë në rrënjëzimin dhe proliferimin e eksplanteve.

Është vërtetuar nga autorë të ndryshëm (Diagneult & Chong, 1985; Rama & Pontikis, 1990; Vorpsi, 1995) efekti i qumështit të arrës së kokosit, ekstrakteve të gungave të ullirit, ekstrakteve të majave të rritjes së kumbullës, etj. në suksesin e shtimit *in vitro*.

Në eksperimentet është provuar me anë të bioprovës në fasulen e gjelbër, prania e faktorëve rrënjëzues në ekstraktet e majave të rritjes të GF-677 dhe në eksperimentin vijues është provuar bashkëveprimi i këtyre ekstrakteve në fazat e proliferimit dhe rrënjëzimit.

2.6.1. Materiali dhe Metoda

Sipas metodikës me anë të aparatit të ekstraktimit me rrotullim (Hossain *et al.*, 2011), u krye marrja e ekstraktit bruto në majat e rritjes së bimëve të GF-677 dhe u realizua bioprova në rrënjëzimin e copave të fasules së gjelbër duke përdorur përqëndrime të ndryshme (2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, 10 ppm).

➤ **Koha e marrjes së majave të rritjes**

Në periudhën e pranverës në muajt mars dhe prill janë marrë sythet e majës, në degëzat një-vjeçare të drunjëzuara të GF 677 me gjatësi 3 cm.

➤ **Përgatitja e ekstraktit nga majat rritëse të sytheve të GF 677**

Ekstraktimi është një proces delikat në manipulimin e materialit bimor (Hossain *et al.* 2014) që realizohet në disa faza si larja paraprake, tharja me ngrirje, bluarja dhe homogjenizimi, rritja e sipërfaqes së mostrës me tretësit. Si tretës polarë përdoret uji, metanoli dhe etanoli në nxjerrjen e përbërësve polarë, ndërsa si tretës jopolarë janë heksani dhe diklormetani. Duhet patur parasysh gjatë teknikës të ekstraktimit në përgatitjen e ekstraktit nga mostrat e bimëve, të sigurohet mos-degradimi i komponentëve aktivë.

Sythet u prenë në copa të vogla (Roussos *et al.*, 2002) dhe për secilin kampion peshohen 50 g të cilat copëtohen, thahen dhe vendosen për homogjenizim në 150 ml tretësirë metanol 70%, dhe ekstrahohen në ekstraktorin Soxhlet për 24 orë. Gotat kimike të mbyllura me letër alumini vendosen në frigorifer në temperaturën 4°C. Homogjenati centrifugohet në 4000/g për 5 min; Supernanti avullohet në aparat avullimi rrotullues në temperaturë 38°C me presion të reduktuar. Ekstrakti i papërpunuar i metanolit (3.0 g) hollohet me ujë të distiluar 100 ml në përgatitjen e ekstraktit krudo (crudo extract). Pas 72 orësh realizohet filtrimi me letër filtri Whatman Nr. 41 për pastrimin nga grimcat. Ekstrakti pa grimca avullohet me aparat avullues me presion të reduktuar në marrjen e ekstrakteve të thata. Mbetjet në hinkën ndarëse riekstrahohen dy herë dhe më pas filtrohen.

Në terren me perlit u mbollën kokrra fasule, të cilat u vendosën në serrë në kushte të kontrolluara temperature 24 - 26°C dhe fotoperiodë 16 orë dritë, ku ujitën rregullisht. Pas dy javësh, bimët e fasules u shkulën, u prenë rrënjët dhe pjesa e mbetur u mboll në enë elermajer me tretësirë ekstrakt bruto, të përgatitur sipas metodikës së përshkruar më lart (Rama & Pontikis, 1990) (Fig. 2.6.1).

➤ **Ekstraktimi në stinë të ndryshme të rritjes së GF-677**

U përftua ekstrakti bruto sipas metodikës së përcaktuar më lart në stinë të ndryshme, dhe u përgatit tretësirë ujore me përqendrim 100 ppm.

Në çdo elemajer me 150 ml tretësirë ekstrakti me përqendrim 100 ppm u vendosën 4 bimë dhe për çdo variant realizohen 4 përsëritje. Dy javë pas

mbjelljes, ndiqet rrënjëzimi i bimëzave të fasules së gjelbër dhe matet numri i rrënjëve dhe gjatësia e tyre. Kjo procedurë përsëritet për çdo stinë të marrjes së materialit për ekstraktim.



Figura 2.6.1. Procesi i ekstraktimit në aparat (bruto ekstrakt)

➤ ***Përqendrimi efektiv i ekstraktit për rrënjëzimin e *Phaseolus aureus****

Pas nxjerrjes së ekstraktit bruto në majat e rritjes së GF-677 u realizua bioprova me përqendrimet të ndryshme ekstrakti, në rrënjëzimin e fasules së gjelbër (*Ph. aureus*). Në çdo enë u vendosën 4 bimë dhe për çdo variant 4 përsëritje dhe çdo provëz mbushet me 150 ml tretësirë:

- v₁ tretësirë ekstrakti 4 ppm
- v₂ tretësirë ekstrakti 6 ppm
- v₃ tretësirë ekstrakti 8 ppm
- v₄ tretësirë ekstrakti 10 ppm

➤ ***Treguesit biometrikë të marrë në studim:***

- Tregues vizualë në aspektin morfologjik;
- Rrënjëzimi i fasules së gjelbër (numër dhe gjatësi rrënjësh).
- U analizuan treguesit biometrikë (numri dhe gjatësia e rrënjëve) në bimët e *Ph. aureus*.

2.6.2. Rezultate dhe Diskutime

2.6.2.1. Ndikimi i stinës së përfatimit të ekstraktit nga majat rritëse të bisqeve të GF-677 në rrënjëzimin e *Ph. aureus*

Efekti i stinës për ekstraktimin e lëndëve endogjene nga majat e rritjes së bisqeve të GF-677 në rrënjëzimin e fasules së gjelbër (*Ph. aureus*) (Fig. 2.6.2 dhe 2.6.3) është analizuar duke përcaktuar tregues biometrikë si numri dhe gjatësia mesatare e rrënjëve të fasules (Graf. 2.6.1).

Vlerësimi i numrit mesatar të rrënjëve të fasules, në bazë të Analizës së Variancës në provën sipas periudhave, tregon se ka ndryshime të vërtetuara statistikisht për nivelin e vërtetësisë $P = 0.05$ sipas testit Tukey-Kramer (Graf. 2.6.2).

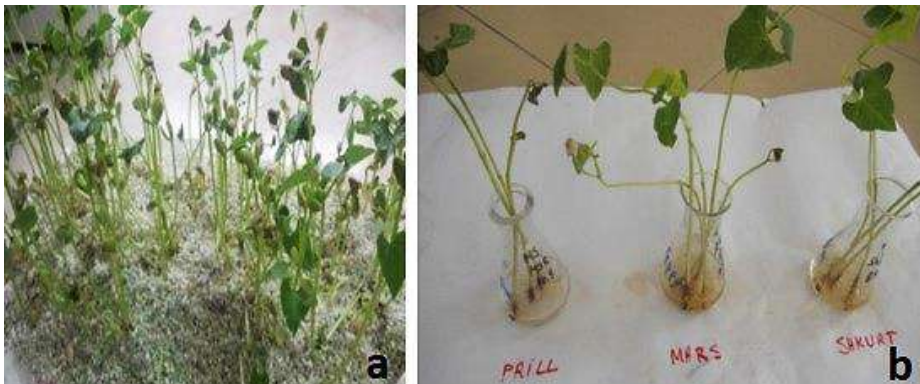


Figura 2.6.2. Fasulja e gjelbër (*Ph. aureus*) në rrënjëzimin sipas periudhave të marrjes së ekstraktit

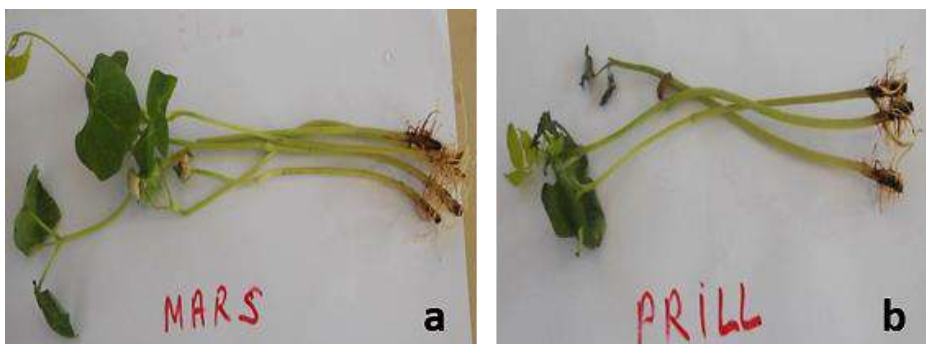
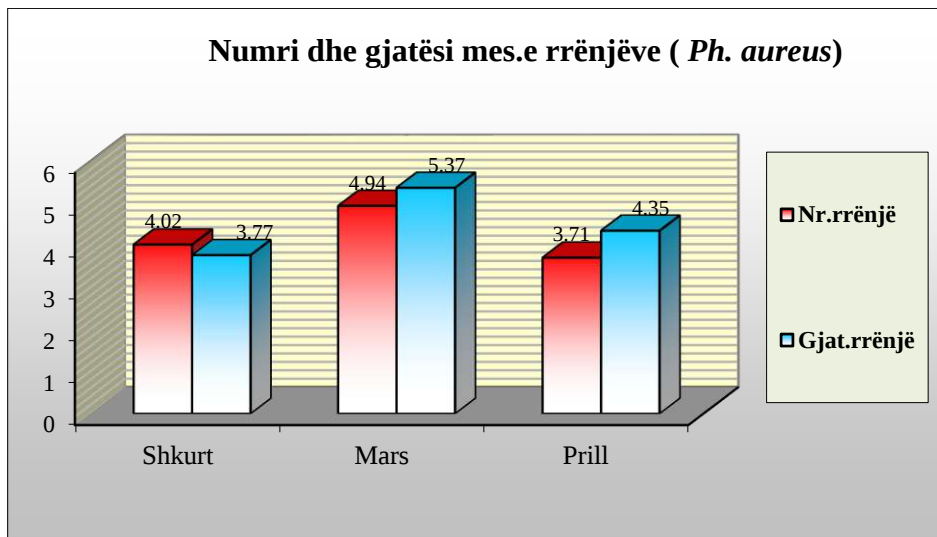


Figura. 2.6.3. Bimë të *Ph.aureus* të rrënjëzuara (muajt mars dhe prill)

Vlerat për parametrin e **numrit të rrënjëve** të fasules sipas periudhave të marrjes së ekstraktit kanë ndryshueshmëri të vërtetuar statistikisht dhe për muajt shkurt dhe prill janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme (4.22) (Graf. 2.6.2).

Përsa i përket **gjatësisë të rrënjëve** të fasules, Analiza e Variancës mbi vlerësimin në provën sipas periudhave, tregon se ekzistojnë ndryshime të vërtetuara statistikisht për nivelin e vërtetësisë $P = 0.05$.

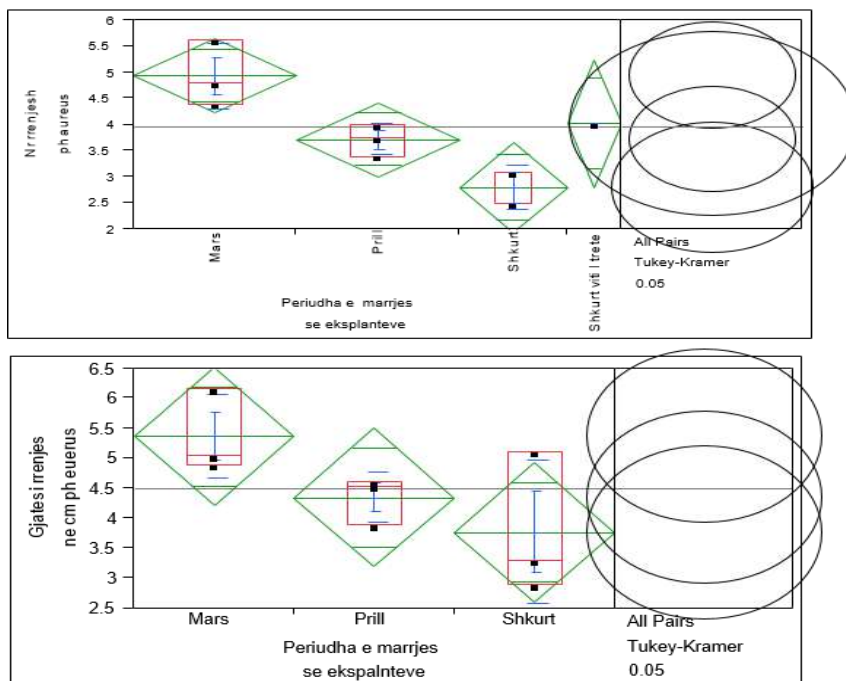
Vlerat për ndikimin e periudhave të ndryshme të marrjes së ekstraktit kanë ndryshueshmëri të vërtetuar statistikisht për nivelin e probabilitetit ($P = 0.05$) dhe muajt (shkurt dhe prill) për parametrin e gjatësisë mesatare të rrënjëve, janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme (4.5) (Graf. 2.6.2).



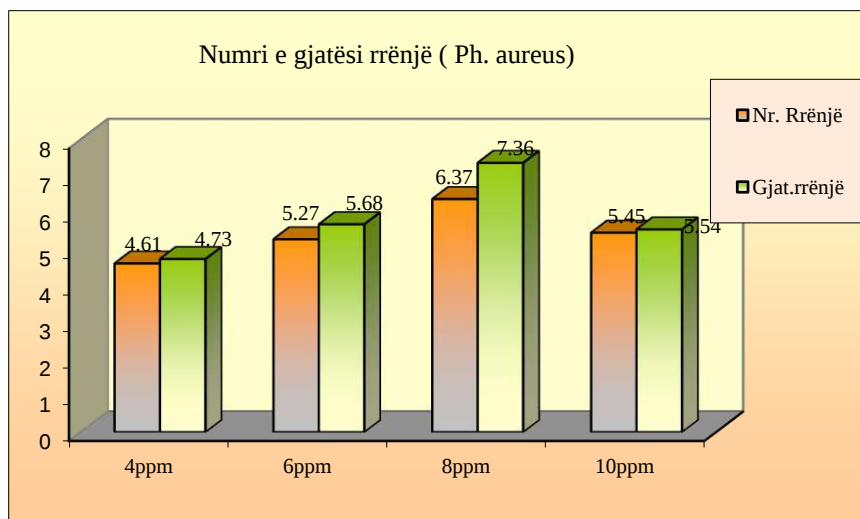
Grafiku 2.6.1. Ndikimi i periudhës së marrjes së ekstraktit në rrënjëzimin e fasules (*Ph. aureus*)

2.6.2.2. Efekti i përqendrimit të ekstraktit të majave të rritjes në rrënjëzimin e fasules së gjelbër (*Ph. aureus*)

Nga bashkëveprimi i ekstraktit të majave të rritjes së GF-677 të ekstraktuara në muajin mars, i vlerësuar si periudha më e mirë, ekstrakti bruto u provua në disa doza: (4 ppm; 6 ppm; 8 ppm; 10 ppm) për rrënjëzimin e bimëve të *Ph. aureus*. Nga rezultatet eksperimentale vëzhgohet se doza 8 ppm paraqet vlerat më të larta në treguesit biometrikë: numri mesatar i rrënjëve (6.37) e gjatësi mesatare e rrënjëve (7.36 cm) (Graf. 2.6.3; Fig. 2.6.4).



Grafiku 2.6.2. Boksplotet për numrin dhe gjatësinë e rrënjëve të *Ph. aureus* sipas periudhave të marrjes së ekstraktit



Grafik 2.6.3. Ndikimi i dozave të ekstraktit në rrënjëzimin e *Ph. aureus*

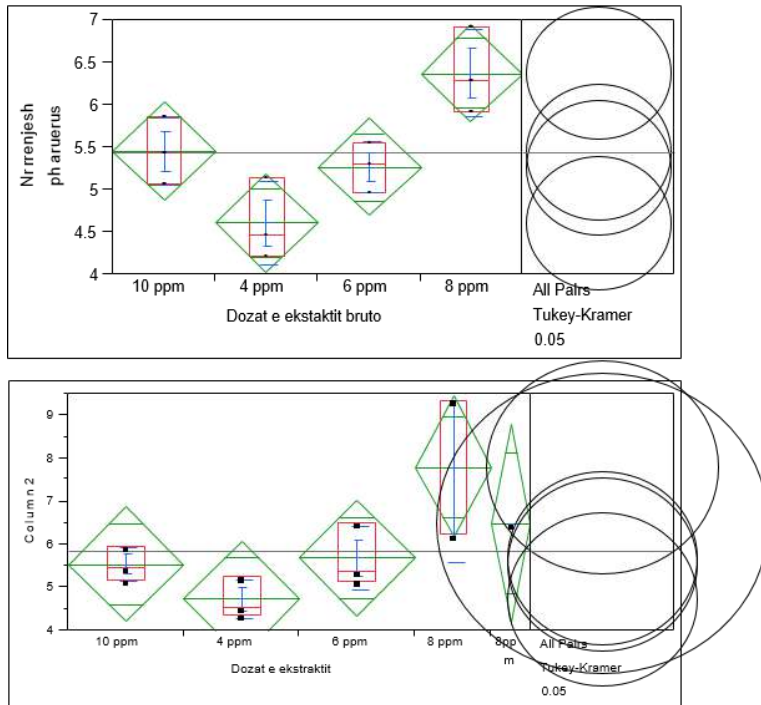


Figura 2.6.4. Bimë të rrënjëzuara të *Ph. aureus*

Vlerësimi i numrit mesatar të rrënjëve të bimëve të *Ph. aureus* bazuar në analizën e variancës (Graf. 2.6.4), në provën sipas dozave të ekstraktit bruto tregon se ekzistojnë ndryshime të vërtetuara statistikisht për nivelin e vërtetësisë $P= 0.05$ sipas testit Tukey-Kramer.

Dozat e ekstraktit 4 ppm dhe 6 ppm, nisur nga krahasimet e mesatareve për variantet e studiuara kanë ndryshueshmëri për parametrin e numrit të rrënjëve, konkretisht janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme (5.42).

Vlerësimi i gjatësisë mesatare të rrënjëve të bimëve të *Ph. aureus* bazuar në analizën e variancës në provën sipas dozave të ekstraktit bruto, tregon se ekzistojnë ndryshime të vërtetuara statistikisht. Përqendrimet e ndryshme të ekstraktit bruto kanë efekt të ndryshëm dhe konkretisht dozat e ekstraktit (4 ppm; 6 ppm; 10 ppm) për parametrin e gjatësisë së rrënjëve ndikojnë me vlera nën vlerën e mesatares së përgjithshme (5.82).



Grafiku 2.6.4. Boksplotet për numrin dhe gjatësinë e rrënjëvetë bimëzave të *Ph. aureus* sipas dozave të ekstraktit bruto

Punime të ngjashme mbi bioprovën kanë raportuar dhe autorë të tjerë (Roussos *et al.*, 2002) me ekstraktet e gungave të ullirit në efektin nxitës në rrënjëzimin e ullirit Koroneiki, nga bashkëveprimi i auksinave me komponime fenolike dhe poliaminave. Vorpsi (1995) ka realizuar me sukses bioprovën nën efektin e ekstrakteve të majave të rritjes të kumbullës në kultivimin dhe shtimin *in vitro*.

Studimet në fushën e bioteknologjisë së aditivëve natyrore në mikroshumin dhe kriokonservimin e bimëve janë të kufizuara (Kulus & Miler, 2021). Aplikimi i ekstrakteve bimore konsiderohet me kosto më të ulët dhe më natyral i fitohormoneve, fenoleve, proteinave (Gnasekaran *et al.*, 2010).

(Hammond *et al.*, 2019) raporton se nga analizimi i komponentëve kimikë të ekstrakteve bimorë rezulton se ato mund të përmbajnë elementë ngadalësues natyrorë të rritjes së bimëve si alternativë ndaj agjentëve osmotikë dhe përbërjes sintetike në kulturë indore.

Peixe *et al.* (2017) kanë raportuar se ekstraktet bimore të ujit të kokosit kanë përmbajtje minerale dhe zeatinë që veprojnë si faktor fiziologjik në rritjen e shkallës së mikroshumimit të bisqeve të ullirit *Olea europea* L.

Ndikimi pozitiv i ekstraktit të kokosit i atribuohet pranisë të lartë të citokininave natyrale, acidet laureike, miristike, kaprilike, palmatike, të cilat luajnë rol në strukturën dhe funksionin e membranës (Mei *et al.*, 2015; Boateng *et al.*, 2016).

2.6.3. Përfundime

- Nga rezultatet eksperimentale mbi të dhënat e treguesve biometrikë, periudha më e mirë vlerësohet muaji mars, pasi ekstrakti i marrë në majat e rritjes së bisqeve të GF-677, rezulton i pasur me lëndë stimuluese, të cilat favorizojnë rrënjëzimin e fasules së gjelbër.
- Bazuar në Analizën e Variancës mund të thuhet se ka ndryshime statistikore në parametrat e studiuar në rrënjëzimin e fasules së gjelbër për periudha të ndryshme të marrjes së ekstraktit bruto nga maja rritëse të GF-677.
- Përqendimi optimal i ekstraktit bruto në rrënjëzimin e fasules së gjelbër (*Ph. aureus*), është 8 ppm, sepse në këtë dozë nxitet rrënjëzim më efektiv bazuar në parametrat e monitoruar;

2.7. Ndikimi i ekstraktit bruto në bashkëveprim me hormonet citokininë dhe auksinë në mikroshumimin e bisqeve të GF-677”

2.7.1. Materiali dhe Metoda

Bazuar në disa studime të disa autorëve (Roussos *et al.*, 2002; Rama & Pontikis, 1990) mbi ndikimin e ekstraktit (bruto) të papërpunuar të gungave të ullirit, në rrënjëzimin *in vitro* të eksplanteve të ullirit Koroneiki, u mendua të eksperimentohej kjo hipotezë edhe në mikroshumimin e nënshartesës GF-677. Përdorimi i ekstrakteve bimore sipas autorëve të ndryshëm edhe pse i kufizuar në kulturat indore, konsiston edhe në analizimin e përbërësve bioaktivë me anë të teknikave të kimisë analitike në dedektimin e ekstrakteve bimore organike me përmbajtje të lartë auksinash, komponime fenolike, dhe

poliaminat që nxisin rrënjëzimin *in vitro* dhe rrisin rezistencën ndaj patogjenëve (George. 1993).

Proliferimi in vitro: Ekstrakti bruto i nxjerrë nga majat e rritjes të GF-677 është provuar në doza të ndryshme (20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm) në bashkëveprim me citokininën BAP (1 mg l^{-1}) në kulturë *in vitro* në fazën e proliferimit të GF-677 në terrenin MS. Treguesit biometrikë të studiuar në fazën e proliferimit: numri i bisqeve; gjatësi e bisqeve; tregues vizualë.

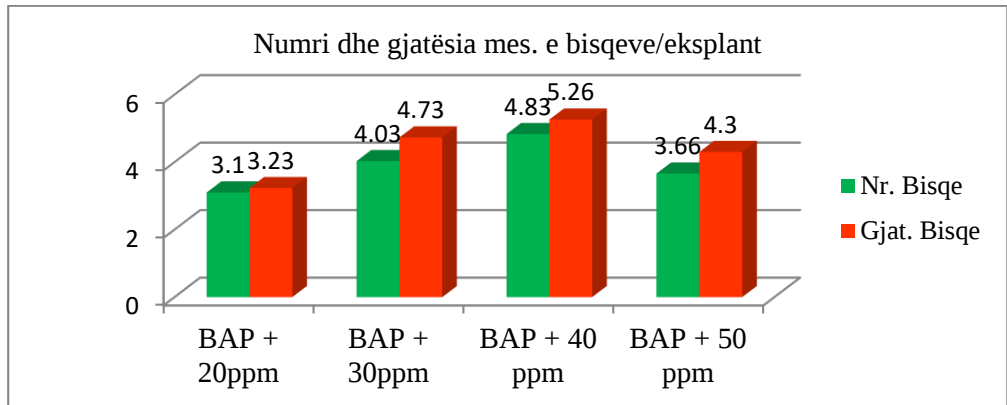
Rrënjëzimi in vitro: Ekstrakti bruto i nxjerrë nga majat e rritjes të GF-677 është provuar në përqendrime të ndryshme (40 ppm, 50 ppm, 60 ppm) në bashkëveprim me auksinën AIB (0.1 mg l^{-1}).

Treguesit biometrikë të studiuar në fazën e rrënjëzimit: numri i rrënjëve, gjatësia e rrënjëve, treguesit vizualë.

2.7.2. Rezultate dhe Diskutime

2.7.2.1. Ndikimi i ekstraktit në potencialin proliferues të sytheve të GF-677 në prani të citokininës BAP

Nga bashkëveprimi i ekstraktit bruto të majave të rritjes së bimëve të GF-677, në përqendrime të ndryshme të ekstraktuara në muajin mars i vlerësuar si muaji më i mirë, me hormonin BAP (1 mg l^{-1}) rezulton se përqendrimi më i mirë i ekstraktit është 40 ppm, pasi ndikon në proliferimin më të mirë të bisqeve (Fig. 2.7.1 a) në parametrat e studiuar: numër dhe gjatësi mesatare e bisqeve (Graf. 2.7.1).



Grafiku. 2.7.1. Ndikimi i ekstraktit bruto me BAP (mg l^{-1}) në numrin dhe gjatësinë e bisqeve

Vlerësimi i numrit mesatar të bisqeve të GF-677 (Pasqyra 2.7.1) në provën sipas përqendrimeve të ekstraktit bruto me BAP tregon se përqendrimi i 40 ppm rezulton optimal në rritjen e numrit të bisqeve (4.83). Analiza dhe krahasimi i mesatareve tregon se ekzistojnë ndryshime të vërtetuara statistikisht për nivelin e vërtetësisë $P = 0.05$ sipas testit Tukey-Kramer.

Pasqyra 2.7.1. Ndikimi i dozave të ekstraktit bruto me BAP (1 mg l^{-1}) në numrin e bisqeve të GF-677.

Përqendrimi i ekstraktit bruto + BAP	Përsëritjet			Mesatarja
	I	II	III	
BAP + 20 ppm	2.9	3.4	3.0	3.1 c
BAP + 30 ppm	4.3	3.7	4.1	4.03 ab
BAP + 40 ppm	5.2	4.5	4.8	4.83 a*
BAP + 50 ppm	4	3.3	3.7	3.66 bc
Mesatarja	4.1	3.725	3.9	3.905

Për përqendrimet e ekstraktit 20 ppm dhe 50 ppm, vlerat e numrit të bisqeve të GF-677 janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme (3.9). Vlerësimi i gjatësisë mesatare të bisqeve të GF-677 (Pasqyra 2.7.3), në provën sipas përqendrimeve të ekstraktit bruto me BAP, tregon se ekzistojnë ndryshime të vërtetuara statistikisht. Rezultati më i lartë (5.26 cm) për parametrin e gjatësisë së bisqeve arrihet për dozën (BAP + 40 ppm) (Fig. 2.7.2 b). Vlerat e ndikimit të përqendrimeve të ekstraktit bruto (BAP + 20 ppm) për parametrin e gjatësisë të bisqeve, janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme (4.38). Analiza e Variancës, testi Tukey-Kramer, tregon se vlerat mesatare të numrit dhe gjatësisë mesatare të rrënjëve sipas përqendrimeve të ndryshme të ekstraktit bruto me citokininë BAP, kanë ndryshueshmëri.

Efekti sinergjik i rregullatorëve konvencionalë të rritjes të bimëve dhe ekstrakteve bimore po vlerësohet si mundësi përdorimi në kulturat indore (Kulus & Miler, 2021) pasi ekstraktet me komponimet e tyre mund të ndikojnë pozitivisht në rezistencën ndaj patogjenëve në bimë, dhe gjithashtu kostoja e ekstraktit bimor mund të jetë më e ulët se përdorimi i fitohormoneve

konvencionalë. Bidabadi *et al.* (2020) raportojnë në studimet e tyre se përdorimi i citokininave sintetike BAP, shkaktajnë disa çrregullime morfo-fiziologjike, anatomike dhe biokimike në bimët e mikroshumara. Kjo dukuri dikton në të ardhmen përdorimin e aditivëve ose ekstrakteve bimorë natyrorë, veçanërisht ato me përmbajtje të lartë të acideve yndyrore dhe në sasi të ulët të polifenoleve.

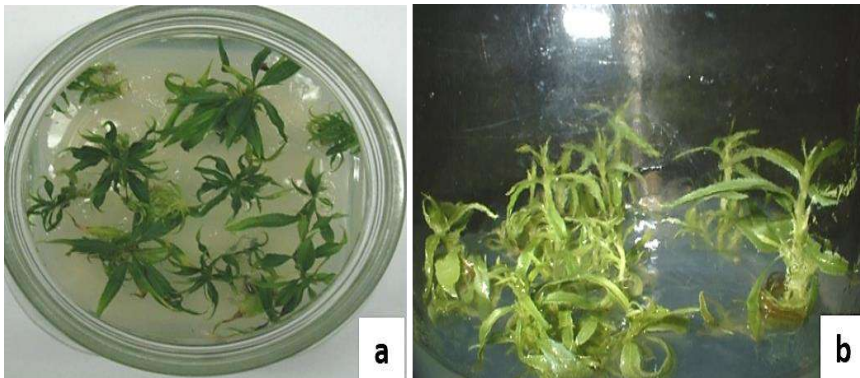


Figura 2.7.1.a) Bisqe në stadin e proliferimit **b)** Bimëza të GF-677 të variantit (BAP + 40 ppm)

Pasqyra 2.7.3. Ndikimi i përqendrimeve të ekstraktit bruto me BAP (1 mg l^{-1}) në gjatësinë e bisqeve (cm) të GF-677

Përqendrimet e ekstraktit bruto + BAP	Përsëritjet			Mesatarja
	I	II	III	
BAP + 20 ppm	3.2	2.8	3.7	3.23 b
BAP + 30 ppm	4.7	4.5	5.0	4.73 a
BAP + 40 ppm	4.9	5.3	5.6	5.26 a*
BAP + 50 ppm	3.7	4.8	4.4	4.3 ab
Mesatarja	4.125	4.35	4.675	4.383

2.7.2.2. Ndikimi i ekstraktit në potencialin rrënjëzues të bimëzave të GF-677 në prani të auksinës AIB

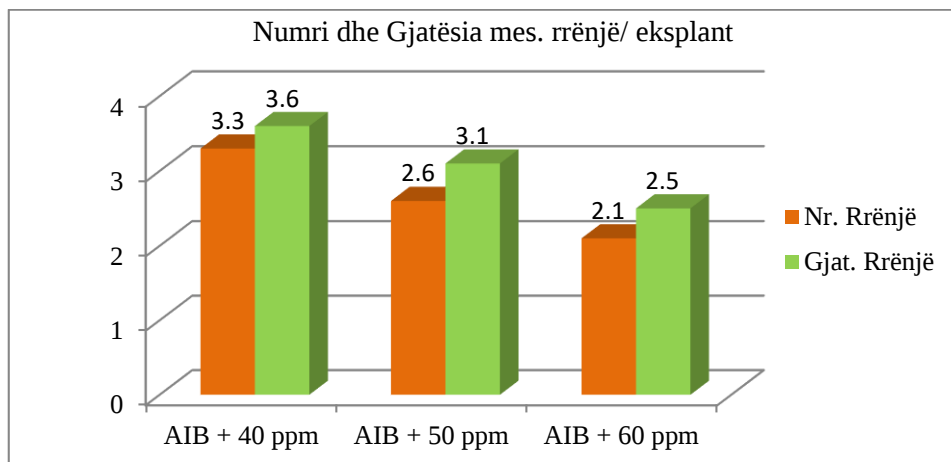
Nga bashkëveprimi i ekstraktit bruto të majave të rritjes të bimëve të GF-677 në përqendrime të ndryshme (40 ppm; 50 ppm; 60 ppm) me hormonin auksinë AIB 1mg l^{-1} në rrënjëzimin e bimëve të GF-677 (Fig. 2.7.2), rezulton se përqendrimi 40 ppm është më efektiv (Graf. 2.7.2) pasqyruar në treguesit biometrikë të studiuar në fazën e rrënjëzimit të bimëve.



Figura 2.7.2. Bimëza të rrënjëzuara nën veprimin e bashkëveprimit të ekstraktit bruto me auksinën AIB

Vlerësimi i numrit mesatar të rrënjëve të bimëzave të GF-677, në provën sipas përqendrimeve të ekstraktit bruto me auksinën AIB, tregon se ka ndryshime të vërtetuara statistikisht për nivelin e vërtetësisë $P = 0.05$ sipas testit Tukey-Kramer, që vërtetohet nga vlera e “F” faktike, e cila rezulton më e madhe se vlera teorike (Pasqyra 2.7.2) sipas Fisherit për ($\text{Prob} > F$).

Analiza dhe krahasimet e mesatareve për variantet e studiuar për diferencën më të vogël të vërtetuar $\text{Lsd} = 3.06815$ për $\alpha = 0.05$ i rendisin përqendrimet e ekstraktit bruto me auksinën AIB, në klasa të ndryshme që përfaqësohen me gërma të ndryshme sipas testit Tukey-Kramer (Pasqyra 2.7.2). Vlerat e ndikimit të përqendrimeve të ekstraktit 50 ppm dhe 60 ppm për parametrin e numrit të rrënjëve të GF-677, janë nën vlerën e mesatares së përgjithshme (2.6).



Grafiku 2.7.2. Ndikimi i përqendrimeve të ekstraktit bruto me AIB (1mg l^{-1}) në numrin dhe gjatësinë e rrënjëve (cm) të GF-677

Analiza e Variancës, testi Tukey-Kramer, tregon se vlerat mesatare të numrit dhe të gjatësisë mesatare të rrënjëve sipas përqendrimeve të ndryshme të ekstraktit bimor në bashkëveprim me auksinën AIB kanë patur ndryshueshmëri. Varianti ($40\text{ ppm} + \text{AIB } 1\text{mg l}^{-1}$) ka efekt më të lartë krahasuar me përqendrime të tjera. Ndryshimet për $\text{Lsd}=3.06$ vërtetojnë se për parametrat e studiuar të treguesve biometrikë: numër dhe gjatësi rrënjësh në bimëzat e GF-677, rezultatet më të mira përfitohen në rastin e përqendrimit (40 ppm) krahasuar me dozat e tjera: (50 ppm ; 60 ppm).

Pasqyra 2.7.2. Ndikimi i përqendrimeve të ndryshme të ekstraktit bruto me AIB 1 mg l^{-1} në numrin e rrënjëve të bimëzave të GF-677

Përqendrime të ekstraktit bruto + AIB	Përsëritjet			Mesatarja
	I	II	III	
AIB + 40 ppm	3.4	3.8	2.7	3.3 a*
AIB + 50 ppm	2.5	3	2.5	2.6 ab
AIB + 60 ppm	1,9	2.4	2.2	2.1 b
Mesatarja	2.6	3.06	2.46	2.6

Pasqyra 2.7.3. Ndikimi i përqendrimeve të ndryshme të ekstraktit bruto me AIB 1 mgL⁻¹ në gjatësinë e rrënjëve të bimëzave të GF-677

Përqendrimet e ekstraktit bruto + AIB	Përsëritje			Mesatarja
	I	II	III	
AIB + 40 ppm	4.4	3.6	3	3.6 a*
AIB + 50 ppm	3.1	2.9	3.5	3.1 ab
AIB + 60 ppm	2.8	2.1	2.6	2.5 b
Mesatarja	3.4	2.8	3	3

Përdorimi dhe bashkëveprimi sinergjik i auksinave, komponimeve fenolike dhe poliaminave me ekstraktet natyrale bimore, luajnë rol të rëndësishëm në nxitjen e rrënjëzimit në kulturë *in vitro* (Roussos *et al.*, 2002).

2.7.3. Përfundime

Nga bioprova e realizuar me ekstrakt bruto në përqendrime të ndryshme të majave të rritjes së bimëzave të GF-677, për ndikimin në rrënjëzimin e fasules së gjelbër rezulton optimal përqendrimi 40 ppm.

2.8. Krahësimi i potencialit rigjenerues të GF-677 me disa nënshartesa drufrutore bërthamore në rrënjëzimin me teknika *in vitro*

Shtimi i nënshartësive drufrutore është i kufizuar në masë të madhe nga mungesa e sistemeve efektive dhe të shpejtë të shumimit. Nënshartesat janë të vështira për tu përhapur dhe kultivuar si tradicionalisht, por edhe me teknikat *in vitro*. Mikroshumimi i nënshartësive vegjetative drufrutore bërthamore (pjeshkë – GF 677, kumbull -Mirabolano 29/C, qershë - Gisela 5 dhe Gisela 6) me metodën e kultivimit *in vitro* realizohet prej shumë vitesh

në laboratorin *in vitro* dhe strukturat e Qendrës së Transferimit të Teknologjive Bujqësore Vlorë.

Zbatimi i teknikave të mikroshumimit *in vitro* për disa nënshartesa ndihmon në sigurimin e materialit bimor të pastër dhe të kontrolluar nga ana fitosanitare dhe me siguri gjenetike, me interes për shtimin tregtar dhe përdorimin e tyre nga ana e kultivuesve fidanë rritës dhe fermerëve. Nënshartesat luajnë një rol të rëndësishëm në prodhimin e kulturave drufrutore me ndikim në ciklin e prodhimit, cilësinë e frutave, rezistencën ndaj sëmundjeve, përmirësimin e metodave të luftimit ndaj insekteve, përshtatjen ndaj lagështirës dhe tokave gëlqerore.

2.8.1. Materiali dhe Metoda

Materiali bimor fillestar – eksplante të nënshartesave drufrutore (GF -677, Mirabolano 29/C, Gisela 5, Gisela 6) u përzgjedh në miniserrën e bimëve “mëmë” të kulturave drufrutore bërthamore në Bazën Eksperimentale – Prodhuese Shamogjin, Vlorë.

Eksplantet (maja rritëse ose sythe apikalë) izolohehen në degë të reja dhe inokulimi në kushte *in vitro* u realizua në muajin prill. Studimi u krye në periudhën prill – shtator. Për secilin variant eksperimentohet në 5 vazo sterile me 10 eksplante secila x 3 përsëritje. Të dhënat merren pas tre subkulturash.

Realizohet sterilizimi i eksplanteve si në eksperimentet e trajtuara më lart dhe më pas inokulimi i tyre në pozicion vertikal me bazën e tyre të zhytur në terrenin ushqyes universal të inokulimit MS në prani të fitohormoneve BAP 1 mg l^{-1} , ANA 0.1 mg l^{-1} dhe të giberelinës GA_3 0.1 mg l^{-1} në boksen laminar.

Eksplantet pas 40 ditësh në terren inokulimi, pas çeljes së sytheve transferohen në terrene të njëjta, për të mundësuar përfundimin e një sasive të madhe nëpërmjet subkulturave. Për rrënjëzimin e bimëzave të përfunduara *in vitro*, për të gjitha nënshartesat u përdor terren MS me shtesa të auksinës AIB 0.35 mg l^{-1} .

Kushtet e kulturës

Në fazat e inokulimit, subkulturës dhe rrënjëzimit, bimëzat e nënshartesave drufrutore (GF-677, Mirabolano 29/C, Gisela 5, Gisela 6) vendosen në dhomën vegetative të rritjes së bimëve, në kushte me parametra të kontrolluar: 16 orë/dritë, temperaturë $24 \pm 1^\circ\text{C}$, intensitet ndriçimi 3500 lux.

Në stadin e rigjenerimit *in vitro* dhe të rrënjëzimit janë vlerësuar parametrat e mëposhtëm:

- përqindja e proliferimit të bisqeve, numri dhe gjatësia e bisqeve për eksplant;
- indeksi i rrënjëzimit të bisqeve, numri dhe gjatësia e rrënjëve për eksplant;
- treguesit vizualë të aspektit morfologjik.

2.8.2. Rezultate dhe diskutime

2.8.2.1. Krahاسimi i nënshartesave të ndryshme për përgjigjen proliferuese në kulturë

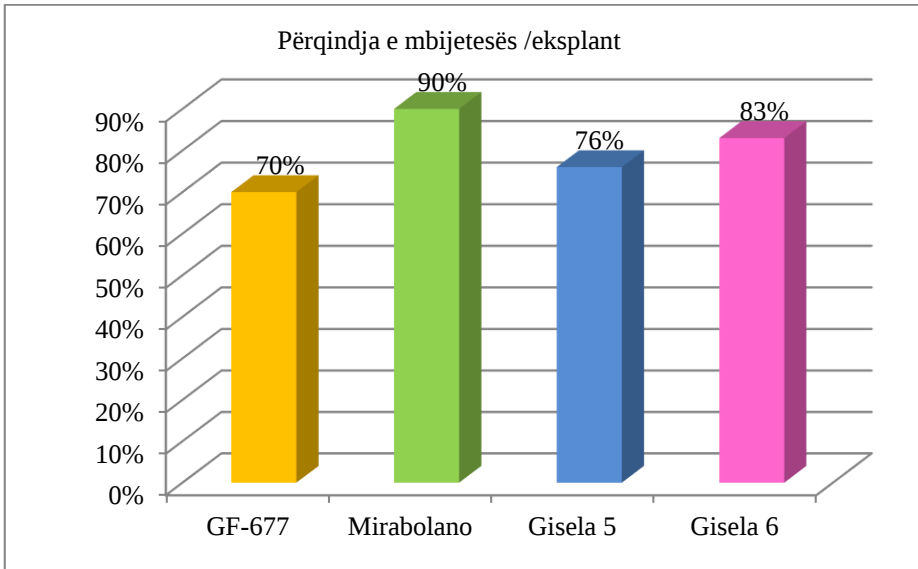
Eksplantet (sythe apikale) të kulturave drufrutore pas 40 ditësh në terren inokulimi MS në dhomën vegetative të rritjes së bimëve, si struktura të organizuara, kaluan në zhvillimin e organogjenezës direkte. Në fazën e inokulimit, përqindja e mbijetesës të eksplanteve rezultoi më e lartë për nënshartesën e kumbullës Mirabolano 29/C me (90 %); Gisela 6 me (83 %); Gisela 5 me (76%) dhe GF-677 me (70 %) (Graf. 2.8.1).

2.8.2.2. Subkultura e bimëzave

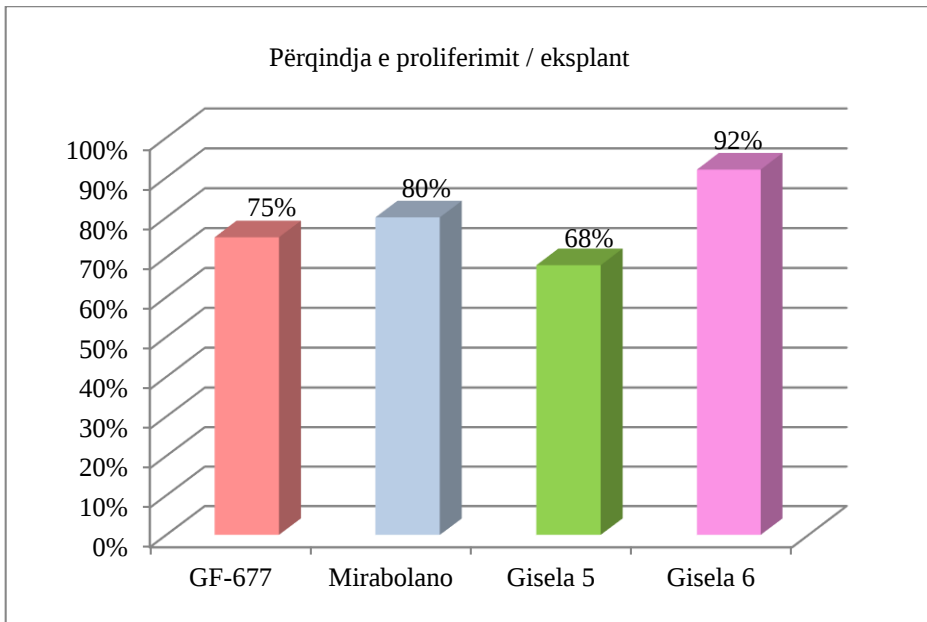
Në fazën e subkulturës në terrenin me përbërje të fitohormone BAP 1 mg^l⁻¹, ANA 0.1 mg^l⁻¹, bisqet e reja të nënshartesave drufrutore dhanë rezultate të ndryshme në bazë të gjenotipit të çdo specie, totipotencës qelizore dhe zhvillimit fiziologjik specifik të tyre.

Fachinello (2001) ka studiuar efektin e citokininave në mikroshumimin e disa nënshartesave si GF- 677, Mirabolano, MrS 2/5, Marianna, GxN22 dhe ka gjetur përqendrimin optimal të BAP 0.7 mg^l⁻¹.

Pas tre subkulturash (20 ditë secila) në terren MS vërehet formimi i bisqeve të rinj dhe vitalë, ku përqindja më e lartë e proliferimit rezulton për nënshartesën e qershisë - Gisela 6 me (92 %); për kumbullën- Mirabolano 29/C me (80 %); për pjeshkën- GF 677 me (75 %); për Gisela 5 me (68 %) (Graf. 2.8.2).



Grafiku 2.8.1. Përqindja e mbijetesës të eksplanteve të nënshartesave drufrutore

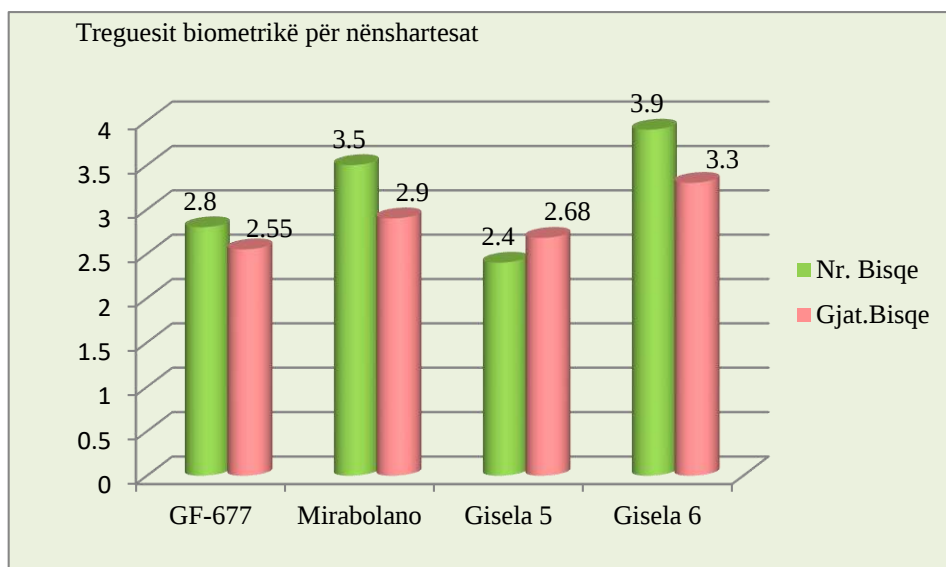


Grafiku 2.8.2. Përqindja e proliferimit/eksplant të nënshartesave drufrutore

Rezultate të ngjashme për nënshartesat vegjetative të qershisë Gisela 5 dhe Gisela 6 kanë raportuar edhe autorë të tjerë (Vujović *et al.*, 2012), ku indeksi i shumimit të bisqeve për nënshartesën Gisela 6 ka rezultuar më i lartë (90 %) krahasuar me Gisela 5 me (70 %).

Duke u përqendruar në treguesit biometrikë për nënshartesat drufrutore bërthamore, rezultatet më të mira pas tre subkulturash në të gjithë parametrat e studiuar në fazën e shumimit të bisqeve, paraqiten për nënshartesën e qershisë Gisela 6 me numrin mesatar të bisqeve (4.1), gjatësi mesatare të bisqeve (3.6 cm); për Mirabolano 29/C me numrin mesatar të bisqeve (3.57), gjatësi mesatare të bisqeve (3.2 cm); për GF- 677 me numrin mesatar të bisqeve (2.8), gjatësi mesatare të bisqeve (2.55 cm); për Gisela 5 me numrin mesatar të bisqeve (2.4), gjatësi mesatare të bisqeve (2.68 cm) (Graf. 2.8.3; Fig. 2.8.1).

Autorë të tjerë Sota, (2012); Hassanen *et al.*, (2012); Caboni *et al.*, (2007) kanë raportuar mikroshumimin me sukses të eksplantëve sythe të *Prunus avium* në terren MS, kombinuar me përqendrimet e ndryshme të citokininës BAP. (Durkovic, 2006) ka arritur rezultate të mira në mikroshumimin e qershisë së egër (*Prunus avium* L.) në terren MS me BAP 0.5 mg l⁻¹ dhe AIB 0.3 mg l⁻¹.



Grafiku 2.8.3. Treguesit biometrikë (numri dhe gjatësia mesatare) e bisqeve të nënshartesave në studim



Figura 2.8.1. Faza e shumimit *in vitro* të nënshartesave: (a) pjeshkë GF 677; (b) kumbulla Mirabolano 29/C; (c) qershia Gisela 5; (d) Gisela 6 (d)

2.8.2.3. Faza e rrënjëzimit të bisqeve të nënshartesave drufrutore

Pas fazës së subkulturave kalohet në fazën e rrënjëzimit të bimëzave për çdo nënshartesë drufrutore në terrenin MS, në prani të hormonit AIB 0.35 mg l^{-1} , që indukson fillimin e formimit të rrënjëve në krijimin e sistemit rrënjor duke ndihmuar rizogjenezën (Vujovic *et al.*, 2012). Përqendrimi i auksinës AIB në terrenin ushqyes ndikon në indeksin e rrënjëzimit, aspektin numerik dhe morfologjik të pasqyruar në treguesit biometrikë të analizuar (Fig. 2.8.2).

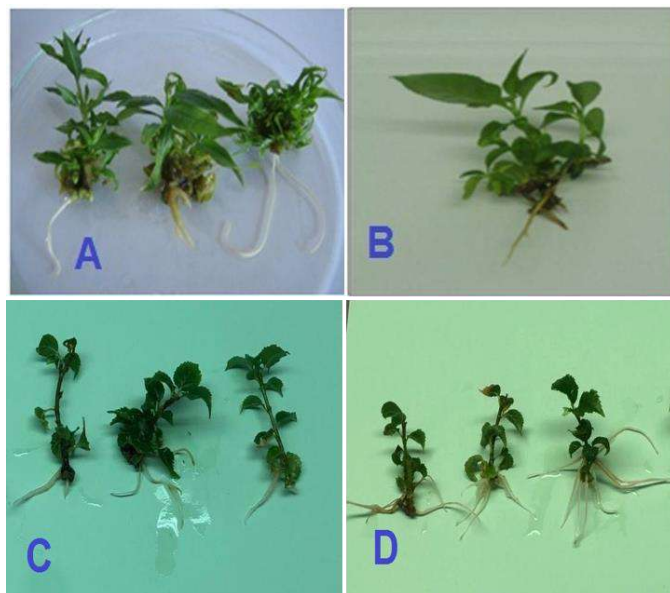
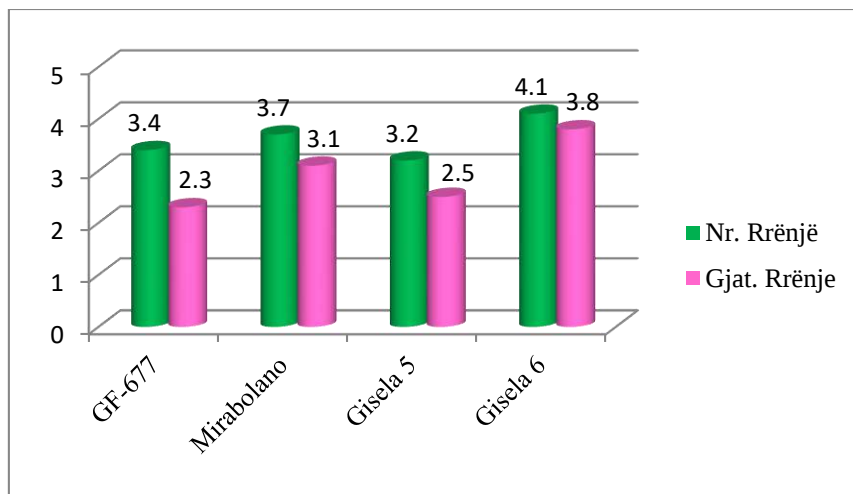
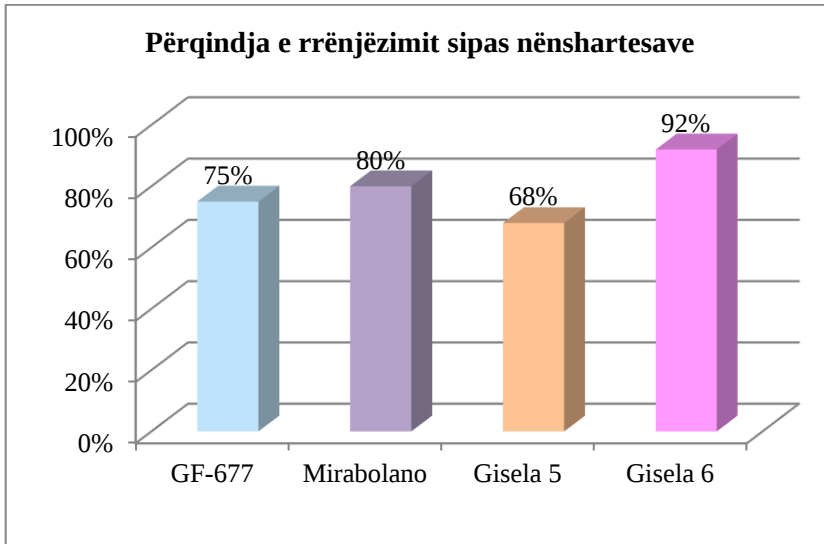


Figura 2.8.2. Rrënjëzimi i nënshartesave drufrutore: (A) pjeshkë- GF677; (B) kumbull– Mirabolano 29/C; (C) qershi- Gisela 5; (D) qershi-Gisela 6

Në fazën e rrënjëzimit rezultatet më të mira u arritën për nënshartesën e qershisë Gisela 6 me numër dhe gjatësi mesatare të rrënjëve, përkatësisht 4.1 dhe 3.8 cm dhe përqindje rrënjëzimi (92 %), (Graf. 2.8.3; 2.8.4; Fig. 2.8.3).



Grafiku 2.8.3. Vlerat e treguesve biometrikë (numri dhe gjatësia mesatare e rrënjëve) në fazë rrënjëzimi për nënshartesat e ndryshme



Grafiku 2.8.4. Përqindja e rrënjëzimit për nënshartësat e ndryshme



Figura 2.8.3. Bimë të nënshartësës së qershisë Gisela 6 në fazën e rrënjëzimit (A) dhe të aklimatizimit *in vivo* (B)

Rezultate të ngjashme kanë raportuar edhe autorë të tjerë (Sarropoulou *et al.*, 2016) në rrënjëzimin e nënshartësës Gisela 6 në përcaktimin e një protokollit efikas në aktivizimin e mekanizmave të rregullimit osmotik në gjethe, duke përdorur terrenin ushqyes MS me 20 g/l manitol dhe 15 g/l sakarozë në përfitim të numrit më të lartë të rrënjëve (6.8).

Për nënshartesën e kumbullës Mirabolano 29/C rezulton përqindja e rrënjëzimit me (80%), numri dhe gjatësia mesatare e rrënjëve (3.7 dhe 3.1 cm); për nënshartesën e pjeshkës GF-677 me (75 %), numri dhe gjatësia mesatare e rrënjëve (3.4 dhe 2.3 cm); për nënshartesën e qershisë Gisela 5 me (68 %), numri dhe gjatësia mesatare e rrënjëve (3.2 dhe 2.5 cm).

Potenciali rigjenerues i nënshartesave të ndryshme bërthamore analizuar nga koeficienti i shumimit të bimëve në fazat e shumimit dhe rrënjëzimit, ndikohet nga specifika të gjendjes fiziologjike dhe aftësisë gjenetike ose totipotencës qelizore për të dhënë një bimë të re me ndërtim dhe funksion të plotë, që shfaq secila nënshartesë në kulturë *in vitro*.

2.8.3. Përfundime

- Bioteknologjia *in vitro* e shtimit të nënshartesave drufrutore bërthamore është metodë efikase bashkëkohore për kultivimin dhe shtimin me sukses në vendin tonë;
- Duke analizuar treguesit biometrikë në fazat e shumimit dhe rrënjëzimit të bimëve rezulton se sythet si struktura të organizuara zotërojnë potencial të fuqishëm rigjenerues në mikroshumimin e nënshartesave drufrutore;
- Terreni universal MS favorizon kultivimin dhe shtimin e nënshartesave bërthamore. Formimi i bimëzave të reja për çdo nënshartesë varet nga totipotenca qelizore, kapaciteti rigjenerues dhe zhvillimi fiziologjik i çdo specie, e shprehur në epërsinë e mikroshumimit;
- Nënshartesa e qershisë Gisela 6 paraqet rezultatet më të mira në proliferim dhe rrënjëzim krahasuar me nënshartesat e tjera drufrutore bërthamore.

2.9. Përcaktimi i afateve kohore në aklimatizimin *in vitro* të nënshartesës së pjeshkës GF-677 në përgatitjen për shartimin e bimëve dhe krijimin e fidanëve"

Shtimi i nënshartesave të pjeshkës GF 677 me teknika *in vitro*, që realizohen gjatë gjithë vitit në laboratorin *in vitro* në sajë të kushteve optimale të rritjes

të bimëve në dhomën vegjetative, ka për qëllim përfitim të produktit të materialit shumues bimor. Këto nënshartesa, pasi aklimatizohen në kushte *in vivo*, pas 1-2 vjet pasi arrijnë standartin e shartimit (0.7 mm – 1cm), shartohen me mbishartesa (sythe) të kultivarëve të ndryshëm të pjeshkës, të kumbullës, nektarinës, bajames (Godini *et al.*, 1988). Sythet e kultivarëve të ndryshëm janë në rolin e mbishartesës për të krijuar një bimë të re me tregues cilësorë, me rendiment të lartë dhe përshtatshmëri shumë të mirë ndaj kushteve mjedisore.

2.9.1. Materiali dhe Metoda

Në këtë studim janë analizuar periudha të ndryshme kohore të ambientimit *in vivo* të bimëve të nënshartesës GF- 677 të prodhuara me teknika *in vitro* në laborator, të ambientuara në serrën e aklimatizimit dhe më pas kanë kaluar në proces kalitjeje në serrën e hijëzimit për rritje të mëtejshme. Janë analizuar treguesit biometrikë në vlerësimin e përqindjes të bimëve të gatshme për shartimin e nënshartesave dhe krijimin e fidanëve standard.

Janë krahasuar dy periudha kohore stinore për ambientimin e bimëve, pranverë dhe vjeshtë, që përkohet edhe me periudhat e kryerjes së shartimit.

- Varianti i parë V₁ – muaji mars 2020- prill 2021
- Varianti i dytë V₂ – muaji tetor 2020- shtator 2021

Shtimi i bimëve *in vitro* të nënshartesës së pjeshkës GF 677 është kryer për një periudhë 1-vjeçare, me anë të metodës së mikroshumimit në boks laminar, me anë të subkulturave në fazën e proliferimit në terren ushqyes MS dhe më pas në zhvillimin e sistemit rrënjor në fazën e rrënjëzimit, që i paraprin fazës së aklimatizimit.

Aklimatizimi i bimëve *in vitro* realizohet në serrën e aklimatizimit në temperaturën 18°-24° C. Bimët e rrënjëzuara vendosen në kontenitorë të pasur me torfë (pH = 5-6) të sterilizuar (Estaun *et al.* 1999) dhe më pas kalohen në tunel me sistem ngrohje bazale. Bimët e ambientuara për 40 ditë, të mbuluara me plastmas, i nënshtrohen trajtimeve fungicide (Fosetyl aluminium dhe Folpet). Bimët janë uniforme nga ana fenotipike si rezultat i homogjenitetit gjenotipik.

Pas 40 ditëve të fazës delikate të aklimatizimit *in vivo*, bimët trapjantohen në qeska të mëdha me përmbajtje (torfë + dhë), dhe më pas kalohen në serrën e

hijëzimit jashtë për ambientim në kushte natyrale. Për secilin muaj janë marrë në studim 30 bimë, për të cilat kryhen matje biometrike të rritjes vegjetative në gjatësi dhe trashësi të tyre, me qëllim analizimin e bimëve të gatshme për shartim në periudhat e kryerjes së procesit të shartimit (mars-prill dhe gusht-shtator).

Për kryerjen e teknikës së shartimit duhet të arrihet standardi i diametrit të trungut 7 mm ose deri në 1 cm. Matjet biometrike bëhen 10 cm mbi pikën e shartimit. Matjet biometrike për parametrat e gjatësisë dhe diametrit të kërcellit kryhen për bimët e nënshartesës të pjeshkës GF 677, në çdo dy muaj për variantin e parë: mars 2020 - prill 2021 dhe për variantin e dytë: tetor 2020 - shtator 2021.

Bimët e gatshme për shartim i nënshtrohen procesit të shartimit me sythe të mbishartesës “Tuono”, i cili është kultivar bajame i përhapur në Itali (Godini, 2001) dhe në Spanjë, është autofertil, frute me madhësi mesatare, ka përputhshmëri dhe prodhimtari të lartë, frutifikim të shpejtë dhe rezistencë ndaj të ftohtit. Teknika e shartimit konsiderohet një teknikë me kosto të lartë krahasuar me shtimin me copa ose më farë (Maynard & Bassuk, 1990).

Shartimi realizohet me një pjesë bimore (sythi si mbishartesë – “Tuono”) mbi një bimë tjetër (nënshartesë- GF 677) dhe nga bashkimi i tyre zhvillohet një bimë e vetme. Sythi nxirret bashkë me lëvoren me gjatësi 3.5-5 cm, me qëllim që të realizohet lidhja e gypave përcues të nënshartesës me mbishartesën. Sythi vendoset tek nënshartesa dhe realizohet lidhja.

Për variantin V₁, bimët e ambientuara për gati një periudhë 1-vjeçare në serrën e hijëzimit, që arriten standardin e shartimit, janë shartuar me syth të zgjuar në muajin prill 2021 në kohë pranvere, me sythe të nxjerrë nga kalema të marra gjatë qetësisë vegjetative. Nënshartesa pritët në pjesën e sipërme të sythit pas shartimit dhe sythi çel pas 3-4 javësh (Rama, 2013). Ndërsa për variantin V₂, bimët shartohen me syth të fjetur në fillim vjeshte, në muajin shtator 2021. Nënshartesa pritët në pranverë, kur sythi i zënë fillon të bymehet.

2.9.2. Rezultatet dhe Diskutime

Varianti i parë V₁ – muaji mars 2020 - prill 2021

Pas fazës të shumimit dhe të rrënjëzimit të bimëve të GF 677 në terrenin ushqyes MS me përqendrime optimale (të rezultuara në eksperimentet e

mëparshme) të citokininës BAP (1 mg l^{-1}) në fazën e prolifërimit dhe të subkulturës dhe të auksinës AIB (2 mg l^{-1}) në fazën e rrënjëzimit (Fig. 2.9.1 a; b; c), bimët pasi zhvilluan sistemin rrënjor u kaluan në fazën e ambientimit *in vivo*, në muajin mars 2020 për rritje dhe zhvillim të mëtejshëm për një periudhë një vjeçare.



Figura 2.9.1. Fazat e mikroshumimit *in vitro* të nënshartesës GF 677: (a) Shumimi; (b) Subkultura; (c) Rrënjëzimi

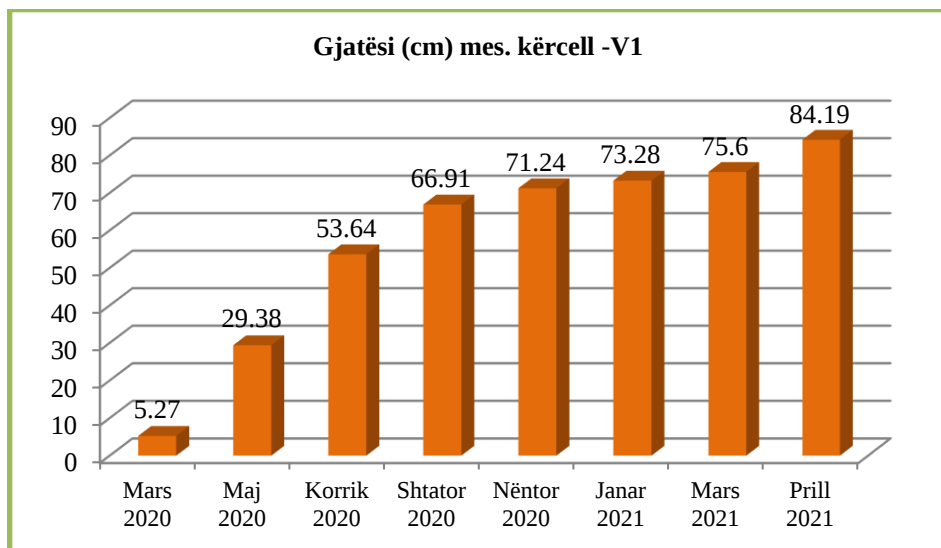
Estaun *et al.* (1999) raporton se terreni më i mirë i përdorur për aklimatizimin e GF-677 dhe rritjen e bimëve në serrë, rezulton torfa e sterilizuar krahasuar me toka ranore dhe përzierja (pleh+ torfë).

Të dhënat e treguesve biometrikë për parametrin e gjatësisë mesatare të kërcellit të bimëzave të fituara sipas periudhave kohore të përcaktuara për variantin V₁, janë marrë në cdo dy muaj nga muaji mars 2020 deri në muajin prill 2021 (Graf. 2.9.1). Nga të dhënat rezulton se gjatësia mesatare më e madhe e bimëve për periudhën kohore 1-vjeçare (mars 2020 – prill 2021) është 84.19 cm në muajin prill, që tregon se rritja graduale e gjatësisë së kërcellit bëhet në varësi edhe të temperaturave stinore.

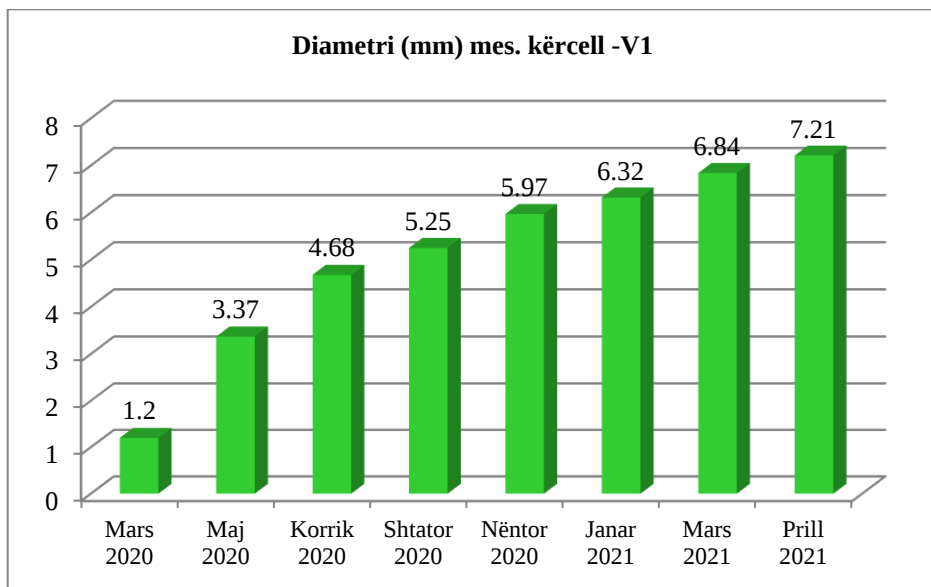
Meqënëse në këtë studim analizohet arritja e standardit të shartimit (7 mm) të bimëve sipas muajve deri në një vit, janë marrë të dhënat e treguesve biometrikë për diametrin (mm) në 30 bimë (Graf. 2.9.2), si edhe përqindjet e bimëve të gatshme për shartim.

Për një periudhë rritje 1-vjeçare (mars 2020 - prill 2021), bimët e prodhuara me teknika *in vitro* dhe të aklimatizuara në muajin mars 2020, nga rezultatet e matjeve biometrike përfundohet se vlera e mesatares për parametrin e diametrit të kërcellit arrihet në muajin prill (7.21 mm) dhe nga 30 bimë të

aklimatizuara në serrën e hijëzimit, vetëm 21 prej tyre arritën standardin e shartimit të shprehur në përqindje (70%).



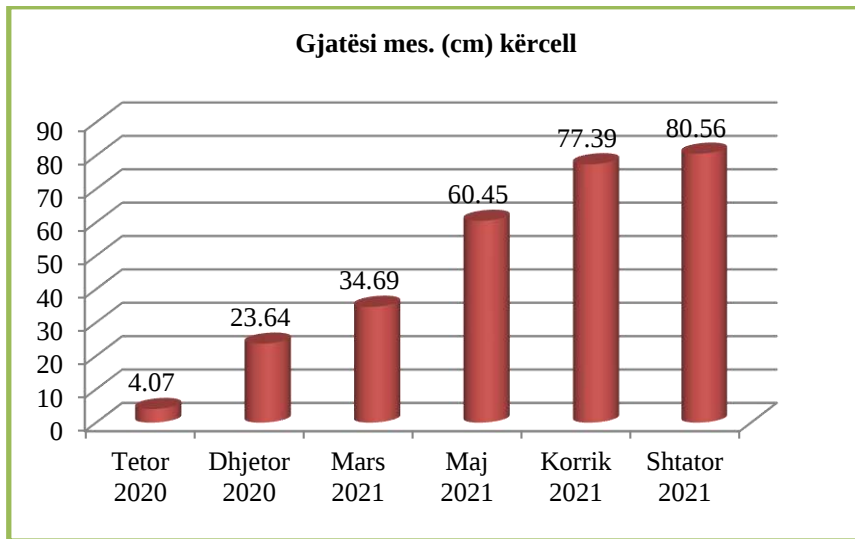
Grafiku. 2.9.1. Gjatësia mesatare e kërcellit (cm) për muajt mars 2020 – prill 2021



Grafiku 2.9.2. Diametri (mm) mesatar i kërcellit në bimët në periudhën mars 2020-prill 2021

Varianti i dytë V_2 – muaji Tetor 2020 - Shtator 2021

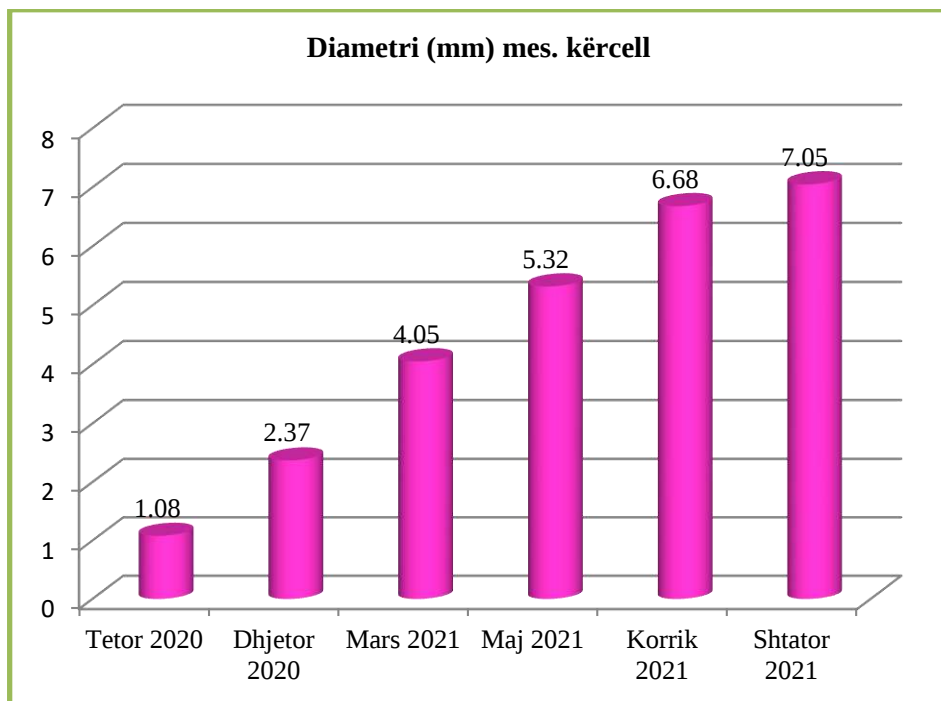
Në variantin e dytë është analizuar periudha 1-vjeçare e rritjes së bimëve (tetor 2020 - shtator 2021) dhe janë marrë të dhënat për arritjen e standardit të shartimit të bimëve të aklimatizuara në kushte *in vivo* në muajin tetor 2020. Rezultatet e matjeve biometrike tregojnë se vlera më e lartë e parametrave mesatarë të gjatësisë dhe diametrit të kërcellit arrihet në muajin shtator 2021, përkatësisht me gjatësi mesatare 80.56 cm dhe diametri mesatar $D = 7.05$ mm (Graf. 2.9.3; Graf. 2.9.4).



Grafiku. 2.9.3. Gjatësia mesatare e kërcellit për muajt tetor 2020 – shtator 2021

Në periudhën (tetor 2020 - shtator 2021), referuar përqindjes të bimëve, që kanë arritur standardin e shartimit rezulton se nga 30 bimë gjithsej të marra në studim, 12 prej tyre kanë arritur standardin e shartimit $D = 7$ mm, pra 40 % e bimëve.

Duke krahasuar të dy periudhat e aklimatizimit të bimëve *in vitro*, bazuar në të dhënat biometrike eksperimentale dhe përqindjet e bimëve të gatshme për shartim ($D = 7$ mm) rezulton se muaji mars (V_1) vlerësohet si periudha më e përshtatshme për aklimatizimin *in vivo* në arritjen e standardit të shartimit 70% të bimëve, krahasuar me bimët e aklimatizuara në muajin tetor (V_2) që rezultuan me 40% të standardit të shartimit (Graf. 2.9.5).



Grafiku 2.9.4. Diametri mesatar i kërcellit në bimët në periudhën tetor 2020-shtator 2021

Bimët e nënshartesës GF- 677 të aklimatizuara dhe të gatshme për shartim për të dy variantet e periudhave kohore, pasi u shartuan me sythe të mbishartesës së bajames “Tuono”, rezultuan me ndryshime në përqindjet e zënies së shartimit. Bimët e shartuara në pranverë në muajin mars patën zënie shartimi 90%, ndërsa bimët e shartuara në vjeshtë në muajin shtator rezultuan me përqindje zënie 65% (Graf. 2.9.6; Fig. 2.9.2).

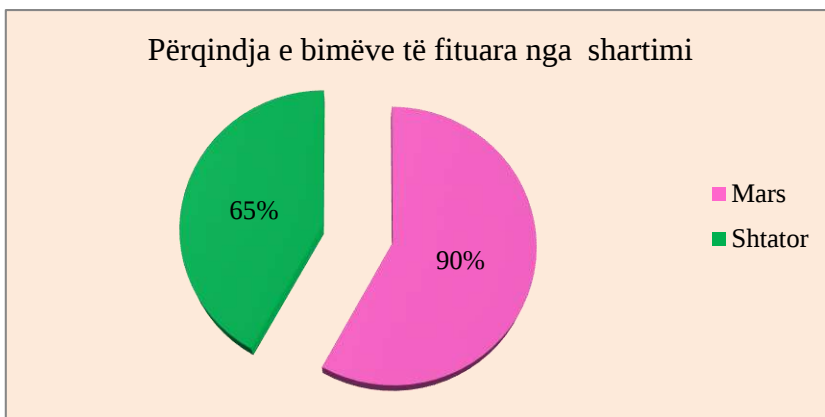
Periudha e pranverës si kohë e shartimit ndikon pozitivisht në përqindjen e lartë të shartimit krahasuar me periudhën e vjeshtës, sepse temperatura optimale me ndikim në procesin e formimit të kallusit dhe zënie të mirë të shartimit është 25-30°C, që arrihet në stinën e pranverës.

Ponchal *et al.*, (2022) raportojnë rezultatet të ngjashme në shartimin e mollës (*Annona squamosa* L.), si periudhën më të favorshme muajt mars-prill. Në temperatura më të larta se 32°C, ulet intesiteti i kallusimit të dy komponentëve të shartimit dhe në temperaturë 40°C ndodh vdekja e qelizave (Sitton, 1931; Kumar, 2012).



Grafiku 2.9.5. Përqindja e bimëve të fituara në standardin e shartimit

Në suksesin e shartimit ndikojnë edhe faktorë të shumtë si përputhshmëria e të dy komponentëve (Yeoman, 1984), kontakti i kambiumeve, aktiviteti i kambiumit të nënshartesës, teknika e shartimit, prekja nga viruset dhe dëmtuesit etj. Formimi i kallusit parenkimatik, i cili është përcaktues për një bashkim të sukseshëm të nënshartesës me mbishartesën, realizohet jo vetëm në temperaturë optimale 12-32°C, por edhe në prani të lagështisë ajrore të lartë. Lidhja midis nënshartesës dhe mbishartesës bëhet nga diferencimi i qelizave të kallusit në indet e përçimit dhe zgjat për 30-40 ditë.



Grafiku 2.9.6. Përqindja e bimëve të fituara nga shartimi sipas muajve të periudhave të kryerjes të shartimit

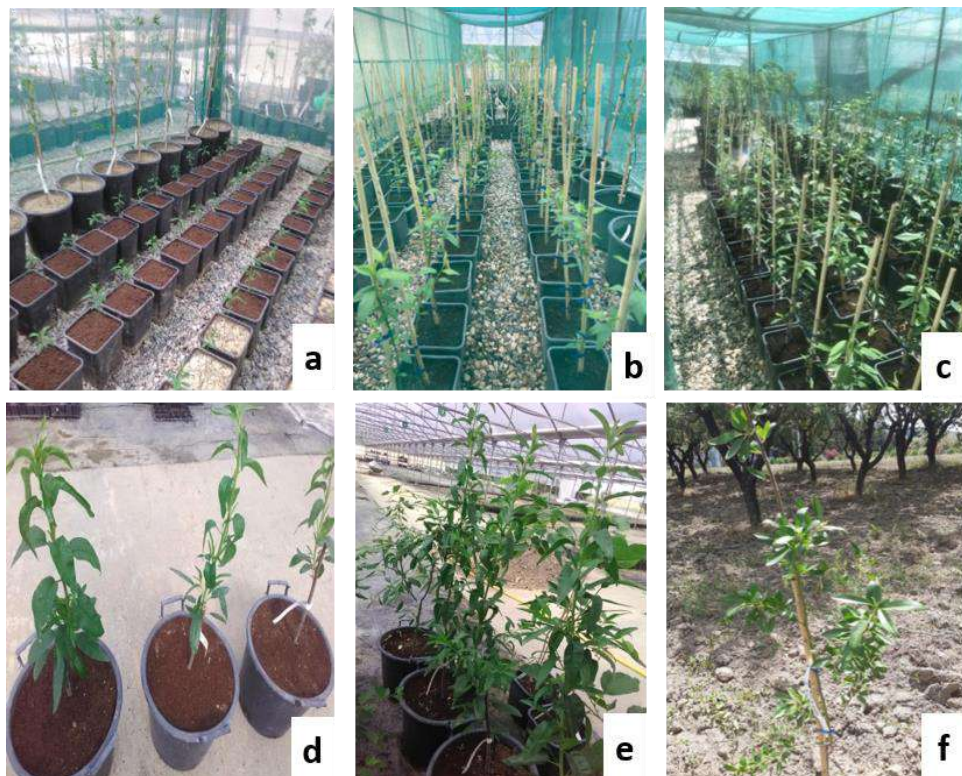


Figura 2.9.2. Bimë të GF 677 në fazat e aklimatizimit *in vivo* për rritje (a, b, c); Bimë të shartuara me sythe bajame “Tuono” (d, e); Fidanë bajame (f) të mbjella në koleksionin e pemëve drufrutore bërthamore Shamogjin

Por ka raste të mospërputhshmërisë si tek pjeshka "Hale" e shartuar me kumbullën “Mirabolano”, që vrojtohet lehtësisht nga prania e një zone nekrotike në lëvore, për shkak të shkatërrimit të floemës nga disa lëndë biokimike, që kalojnë midis ndërmjetësit dhe nënshartesës.

Shartimet me sythe në pemë drufrutore bërthamore si tek pjeshka dhe kajsia japin rezulate të mira krahasuar me shartimet e kryera me kalem, që kryhen tek farorët. Kombinimet e pjeshkës me nënshartesën e kumbullës “Mariana” zakonisht janë të papërputhshme (Rama, 2013). Autorë të tjerë (Tabakov *et al.*, 2021) raportojnë se pemët e prodhuara nga shartimi i GF 677 me kultivarë të kumbullës “Stanley” dhe “Jojo”, japin rendiment dhe prodhimtari të lartë.

Rëndësi të madhe në procesin e shartimit ka edhe përdorimi i materialit shumues të pastër nga viruset, viroide ose patogjenë të ngjashëm me to të mbishartesës që ndikon në përqindjen e zënies dhe fuqinë e bimës së re (Posnette, 1966). Nënshartesat kanë ndikim të madh në kohën e futjes në prodhim, në formimin e sytheve frutorë, në cilësinë dhe pjekjen e frutave, qëndrueshmërinë ndaj të fohtit, thatësirës, sëmundjeve dhe dëmtuesve.

Rolin kryesor mendohet se e ka nënshartesa sipas Tukey & Brase, (1933), sepse asnjë element i bimës të shartuar (nënshartesë – ndërmjetës – mbishartesë) nuk ka kontroll absolut mbi vegjetacionin.

Në marrëdhëniet nënshartesë/mbishartesë mendohet se vepron një mekanizëm molekular, që aktivizon disa gjene në këmbim të informacionit gjenetik ndërmjet dy komponentëve të bimës së shartuar (Ohta, 1991).

2.9.3. Përfundime

- Shumimi me teknika *in vitro* i nënshartesave drufrutore sikurse edhe i nënshartesave të pjeshkës GF 677 duke u nisur nga një eksplant i vetëm në kulturë *in vitro* realizohet me qëllim shartimin e tyre (me syth ose kalem) dhe krijimin e fidanëve cilësorë dhe të gatshëm për shitje në treg sipas kërkesave specifike të fermerëve;
- Në standardizimin e fidanëve ndikojnë disa tregues të rëndësishëm si specia, kultivari, nënshartesa, mbishartesa, trashësia e fidanit, pastërtia nga patogjenë, sëmundje dhe dëmtues;
- Analiza e parametrave të standardit dhe të zënies së shartimit vlerëson si periudhën më të përshtatshme për ambientimin e bimëve *in vitro* muajin mars krahasuar me muajin tetor;
- Cilësia e materialit bimor e siguruar me teknikat e shumimit *in vitro* si hallkë e rëndësishme e certifikimit, synon klasifikimin dhe seleksionimin e varieteteve kryesore me potencial të lartë prodhues si edhe furnizimin me material të pastër dhe të kontrolluar për fermerët dhe fidanishtet e vendit.

PËRFUNDIME DHE REKOMANDIME

Nga studimi i kultivimit dhe mikroshumit *in vitro* të nënshartesës së pjeshkës GF-677 arrihet në disa përfundime:

- Mikroshumimi *in vitro* i nënshartesës së pjeshkës GF-677 konsiderohet metodë bashkëkohore në vendin tonë, dhe rezulton efikase në shtimin e specieve drufrutore bërthamore;
- Formulimi i protokollit shkencor për kultivimin, mikroshumimin dhe rrënjëzimin e nënshartesës së pjeshkës GF-677 ka karakter specifik;
- Për mikroshumimin e nënshartesës GF-677 më efektive rezultojnë eksplantet sythe, si struktura të organizuara që kalojnë në organogjenezë direkte të formimit të organeve të reja;
- Terreni ushqyes optimal në mikroshumimin e bimëve të GF-677 rezulton MS (Murashige & Skoog). Terreni MS/2 i përgjysmuar në makro-mikrokripëra mund të përdoret me efikasitet në kultivimin e GF-677, sepse ka kosto ekonomike më të ulët.
- Terreni DKW nuk këshillohet të përdoret për mikroshumimin e GF-677, pasi ka përqendrim të lartë kripërash duke ndikuar në uljen e përqindjes së proliferimit dhe rrënjëzimit, si edhe favorizon shfaqjen e dukurisë të nekrozës dhe vitrifikimit;
- Modifikimi i terrenit universal MS me pektinë si lëndë ngurtësuese ndikon në proliferimin dhe rrënjëzimin më të mirë të bimëve të GF-677, duke ndikuar pozitivisht në uljen e dukurisë së vitrifikimit.
- Koha më e përshtatshme për bimët për shumimin *in vitro* të GF-677, vlerësuar nga disa tregues biometrikë të analizuar rezulton muaji mars dhe prill, si periudha kur bimët janë në vegjetacion dhe kanë përqendrim më të lartë të fitohormoneve;
- Bioprova me fasulen e gjelbër (*Phaseolus aureus*) dhe prania e faktorëve rrënjëzues në ekstraktet e majave të rritjes të GF-677 përbën një risi në këtë studim, që mund të aplikohet dhe realizohet me sukses në shtimin *in*

vitro të kulturave drufrutore, me qëllim të veprimit të mekanizmave fiziologjikë të ekstrakteve bimore të papërpunuara në bazë të komponentëve kimikë që ato përmbajnë në nxitjen dhe promovimin e formimit të bisqeve dhe rrënjëzimit të tyre. Roli i tyre konsiston edhe në mbrojtjen ndaj sëmundjeve dhe patogjenëve.

- Rekomandohet që prodhimi me teknika *in vitro* i materialit bimor të nënshartesave drufrutore bërthamore të shoqërohet me kontrollin fitosanitar dhe testimin gjenetik, që përbën certifikimin e këtij materiali të pastër nga viruse, viroide ose patogjenë të ngjashëm me to dhe identike me bimën “mëmë” dhe në mos shfaqjen e variacioneve somaklonale në aspektin gjenetik.
- Prodhimi i nënshartesave drufrutore bërthamore me teknika *in vitro* në kulturat drufrutore, do t'i shërbejë fermerëve dhe fidanrritësve për furnizimin me material mbjellës bimor të kategorisë “bazë”, të kontrolluar në aspektin gjenetik dhe fitosanitar në përmirësimin e hallkave të sistemit të certifikimit në respektim të normativave të BE-së.

LITERATURA

- Abdelahi H., Muleo R., Rugini E. 2005.** Study of basal growth media, growth regulators and pectin effects on micropropagation of pear (*Pyrus communis* L.) cultivars ” *Seed and Plant*, 21(3):373-384.
- Ahmad T. 2002.** Effect of different media composition and regulatores on *In vitro* shoot proliferation and rooting of peach rootstock GF-677. *M. Sc. (Hons) Thesis, Univ. Arid. Agri.*, pp. 2-3.
- Ahmad T., Rahman, H. U., Ahmad. C. H., Laghari, M. H. 2003.** Effect of culture media and growth regulators on micropropagation of peach rootstock GF- 677. *Pak. J. Bot.*, 35(3): 331-338.
- Ahmad T., H.U. Rehman., M.H. Laghari, 2004.** Effect of different auxins on *In vitro* rooting of the peach rootstock GF-677. *Sarhad J. Agric.*, 20: 373-375.
- Ak B.E., P.K Kiyar., IH Hotipoglu 2021.** Effect of different BA and IBA concentrations on proliferation and rooting of “Garnem” rootstock *in vitro*. *Journal of Agricultural Envirinment and Food Sciences*.
- Ammirato. P. V. 1983.** Embryogenesis. Ne: *Handbook of Plant cell culture*, Vol. 1: 82-123.
- Amzallag G.N., Lerner, H. R., Poljakoff-Mayber, M.1992.** Interaction between mineral nutrients, cytokinin and gibberillic acid during growth of sorghum at high NaCl salinity. *J. Exp. Bot.* 43: 81-87.
- Antonopoulou, C., Dimassi, K., Therios, I., Chatzissavvidis, C. 2004.** The influence of radiation quality on the *in vitro* rooting and nutrient concentration of peach rootstock GF 677. *Biologia plantarum.*, 48, 549 -553.
- Antonopoulou, C., Dimassi, K., Therios, I., Chatzissavvidis, C. & Papadakis, I. 2007.** The effect of Fe-EDTA and of ascorbic acid on *in vitro* rooting of the peach rootstock GF- 677 explants. *Acta Physiol Plant.*, 29: 559-561.
- Baldini E., Scaramuzzi F., 1981.** Il Pesco Frutticoltura Anni’80. REDA, Roma.
- Berger F., Waites W.M. Leifert C. 1994.** An improved surface disinfection method for shoot explants from Iris rhizoms infected with bacterial soft rot. *Journal of Horticultural Sciences*, 69:491-494.
- Bindro A.S.1975.** Inducing resistance to iron-deficiency chlorosis in peach-plants through the use of suitable rootstock. *J.of Research*, 14: 38-40.
- Boffelli E., & Sirtori G. 2004.** Alberi da Frutto. DVE ITALIA S. P. A. Milano.

- Bussi C., Huguet G., Besset J. Girard T. 1995.** Rootstock effect on the growth and fruit yield of peach. *European Journal of Agronomy*. vol. 4, issue 3.p. 387-393.
- Caboni E., Tonelli M.G., Lauri P., D'Angeli S., Damiano, C. 1999.** *In vitro* shoot regeneration from leaves of wild pear. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 59: 1-7, 1999. Kluwer Academic Publishers.
- Caboni, E., Tonelli, M. G., Biasi, R. and Damiano, C. 2007.** Effect of exogenous cytokinins, applied in the proliferation phase, on the rooting performance of kiwifruit: The case of CPPU and BA. *Acta Hort.*764:285-288. D., Thomai T., 2005
- Conte L., Fontechi P., Insero O., Liveroni A., Nicotra A. 2004.** Monografia di cultivar di pesco, nettarine e percoche. Mi.P. A. F-IST, Roma.
- Crawford D.F., Hartney V.J. 1995.** Micropropagation of *Acacia mangium* and *Acacia senophylla*. *Indian J. Exp. Biol.* 34: 590- 591.
- Cricca L. 2010.** Vitroplant Italia. Nove proposte nei portinnesti. S.r.l. Società Agricola.
- Çakalli D., Thomai T., 2005.** Frutikultura speciale (Pomologjia). Universiteti Bujqësor Tiranë. pp. 208.
- Çausi E., Kongjika E., Zeka Zh. 1998.** Ndikimi i llojeve të ndryshme të fitohormoneve dhe të eksplanteve në mikroshumimin e bimës së kiwit (*Actinidia* sp.). Punime të Institutit të Kërkimeve Biologjike, Nr.11: 36-44.
- Damiano, C., Monticelli, S., A Fratarelli, 2008.** Allestimento di una collezione *in vitro* di pesco di interesse storico "VI Convegno Nazionale sulla Peschicoltura meridionale. P.60.
- Damiano C, Caboni E, Fratarelli A., 2002.** *In vitro* propagation of *Prunus cerasus* L. *Italus Hortus* 9(3):16-17.
- Damiano C., Catanero E., Giovinazzi J., Frattarelli A., Caboni E. 2004.** La micropropagazione del nocciolo. *Frutticoltura*12: 53-56.
- De Olivera M.L.P., Costa M.G.C., Silva C.V., Otoni W.C. 2010.** Growth regulators, culture media and antibiotics in the *in vitro* shoot regeneration from mature tissue of Citrus cultivars. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. V45, p.654-660.
- De Paoli G., Rossi V., Del Pozzo P. 1994.** Prove di propagazione *in vitro* – su larga scala di *Prunus armeniaca*.pp. 211-213.
- Diagneult T., Chong C. 1985.** Characterization of the root promoting activity in willow extract. *The International Plant Propagator's Combined Proceedings*.
- Dimassi T.K. 1989.** Factors affecting *in vitro* multiplication and rhizogenesis of the peach rootstock GF-677 and petunia (*Petunia hybrida*). PhD Thesis. Aristotle University of the Saloniki, Greece.

- Dimassi-Theriou, K. & Economou, A. 1993.** The effect of the explant type and the nutrient substrate composition on shoot production *in vitro* cultures of the rootstock GF-677 (*P. persica* x *P. amygdalus*). Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece, Scientific Annals, pp. 31-35.
- Dimassi-Theriou, K. 1995.** *In vitro* rooting of rootstock GF-677 (*Prunus persica* x *P. amigdalus*). In Sciences Annals. Aristotle Univ. of Thessaloniki, pp. 31-35.
- Dobranszki, J., Teixeira da Silva, J.A. 2010.** Micropropagation of apple - A review. *Biotechnology Advances.*, 28: 462-488.
- Dodds, J.H & Roberts, L.W. 1995.** Micropropagation by bud Proliferation. Ne: *Experiments in Plant Tissue Culture*, 126-135.
- Driver J.A., Kuniyuki A.H. 1984.** *In vitro* propagation of paradox walnut rootstock. *Hort. Sci.*, 19: 507-709.
- Driver J.A. Suttle G.R. 1987.** Nurse handling of propagules. In: *Cell and Tissue Culture in Forestry*. (Bonga J.M. & Durzan D.J., eds), pp. 320-335. Netherlands
- Durkovic, J. 2006.** Rapid micropropagation of mature wild cherry. *Biol Plantarum*. 50: 733-736.
- Edin M., Garcin A. 1994.** A new peach rootstock: Cadaman Avimag (*Prunus persica* x *Prunus davidiana*). *Arboricultura Fruitiere (France)*. n.475. p 20-23.
- Elahi, H., Muleo R., Rugini, E. 2005.** Study of basal growth media, growth regulators and pectin effects on micropropagation of pear (*Pyrus communis* L.) cultivars. *Seed and plant* 2005; 21(3):373-384.
- Estaun, V., Calvet, C., Camprubi, A., Pinochet, J. 1999.** Long-term effects of nursery starter substrate and AM inoculation of micropropagated peach almond rootstock GF-677. *Agronomic Paris* 19: 483-489.
- Fachinello, Jose Carlos. 2001.** *In vitro* multiplication of prunus rootstocks in different BAP concentration in two culture media. *Rev. Bras. Frutic*, vol. 23, N.3, pp. 488-492.
- Fasolo, F., Malavasi, F., Ranieri, R. 1987.** Preliminary investigation on *in vivo* rooting of micropropagation of GF-677, peach rootstock. *Acta Hort.*, 212: 181-187.
- Fideghelli C, 1994.** *Pesco in: Frutticoltura speciale REDA*, Roma.
- Fiorino P., Loreti F. 1987.** Propagation of fruit tree by tissue culture in Italy. *Hort Science*, 22: 353-358.
- Fotopoulos S., Sotiropoulos T.E. 2005.** *In vitro* rooting of PR 204/84 rootstock (*Prunus persica* x *P. amigdalus*) as influenced by mineral concentration of the culture medium exposure to darkness for a period. *Agronomy Research*. 3. 3-8.

- Garooosi, G.A., Nezami E. A., Haddad. R. 2010.** The effect of PGRs on *in vitro* shoot multiplication of GF-677 hibrid (*Prunus persica* x *P. amygdalus*) rootstock on GNH medium. *Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding*, Vol.1, No.1, December 2010.
- George E. F. 1993.** Plant Propagation by experiments Tissue Culture. *Exegetics Limited England*, 39-42: 111-126.
- George, E. F., Hall, M. A. & Klerk, G.-J. D. 2007.** The Components of plant tissue culture media I: Macro- and micro-nutrients. in *Plant Propagation by Tissue Culture*. 1, 65–113 (Springer Netherlands, 2007).
- Gerdakaneh M., Mohamadi M., Badakhshan., Arji I. 2020.** The effect of growth regulators on micropropagation of GF 677 rootstock under liquid medium conditions. *Journal Plant Production*. Vol. 27. Issue 2. P. 43-57.
- Godini A., De Palma L, 1988.** Osservazioni sull' affinità d'innesto tra cultivar di mandorlo autocompatibili e susino Mariana (clone GF 8-1). *Rivista di Frutticoltura* N.3.
- Godini A, 2001.** Le culture arboree. Introduzione di Innovazioni Tecnologiche nei processi produttivi. Interreg II, Italia- Albania.
- Grant N.J., Hammat N. 1999.** Increased root and shoot production during micropropagation of cherry and apple rootstock: effect of subculture frequency. *Tree Physiol.* 19:899-903.
- Grassely C.1987.** New French stone fruit rootstock. *Fruit Varieties Jornal*, 41: 65-67.
- Gurel S., Gulsen Y. 1998.** The effect of IBA and BAP on *in vitro* shoot production of almond (*Amygdalus communis* L.). *Tr.J.of Botany*.22:375-379.
- Hammerschlag F.A. 1987.** Factors influencing *in vitro* multiplication and rooting of peach cultivars. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Vol.8, Issue 3. P.235-242.
- Hammond S.D., Viehmannova I., Zamecnik J., Panis B., Cepkova P.H. 2019.** Efficient slow- growth conversation and assessment of clonal fidelity of *Ullucus tuberosus* Caldas microshoots. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 138. P. 559-570.
- Hartman, H. T. & Kester, D. E. 1982.** Principles of Tissue Culture for Micropropagation. Ne: *Plant Propagation, Inc.*, 524-557.
- Hasan S.Z.U., Ahmad T., Hafiz I.A. Hussain A. 2010.** Direct plant regeneration from leaves of *Prunus* rootstock GF-677 (*Prunus amygdalus* x *P. persica*). *Pak.J.Bot.*, 42(6);3817-3830.
- Hassanen, S. A. and Gabr, M. F. 2012.** *In vitro* propagation of pear *Pyrus betulaefolia* rootstock. *American-Eurasian. J. Agric. & Environ. Sci.* 12:484-489.

Hawes ch. and Jeunemaitre S.B. 2001. Plant cell biology. *Oxford University Press*. 200:195.

Hosseini A.R.D. Mogham E.G., Khorasani S.K., Bihamta M.R. 2011. Effect of growth regulators on micropropagation of somme mahaleb dwarf genotypes (*Prunus mahaleb* L.). *Archives of Applied Sciences Research*, 3 (1):118-125.

Hu C.J., Wang P. J. 1983. Meristem, shoot tip and bud cultures. Ne: *Handbook of plant cell culture*, Vol. 1: 177-187.

Institut National de la Recherche Agronomique 1987. *Journal Arboriculture Fruitiere (France)*. N.397. p. 45.

Joung E., Reid Brenda Olcott. 1979. Siberian Rootstock Delays Bloom of Peach. *Journal of the American Society for Horticulture Science*. Vol. 104. Issue 2, p. 178-181.

Kadota M., Nimi Y. 2003. Effect of cytokinin types and their concentration on shoot proliferation and hyperhydricity *in vitro* pear cultivar shoots. *Plants Cell, Tissue and Organ Culture*, 72: 261-265.

Kamali K., Majidi E., Zarghami R. 2001. Micropropagation of GF-677 rootstocks (*Prunus amygdalus* x *P. persica*): CIHEAM Cahiers Options Méditerranéennes; n. 56, pages 175- 177.

Kamali, K., Majidi, E. and Zarghami, R. 2006. Micropropagation of GF677 rootstocks (*Prunus amygdalus* × *P. persica*). *Agris*. 56: 175-177.

Kas J. Frutos D., Sanchez M.A., Rodriguez J., Carrillo A. 2004. Determination of the optimal culture medium and growth regulator concentration for the *in vitro* proliferation stage of the peach-almond hybrid mayor. *Acta Hort*. 658: 617-622.

Kongjika E., Zeka Zh., Caushi E., Dinga L., 1995. Metodat e bioteknologjisë *in vitro* për fitimin e bimëve të pafektura. Punime të Institutit të Kërkimeve Biologjike. Nr.10:37-43.

Kongjika E. & Zekaj Zh. 1997. E ardhmja i përket Bioteknologjisë Broshurë, IK Biologjike.1-16.

Kongjika, E. Zeka, Zh Caushi E. 2002. Bioteknologjia e bimëve – Kulturat *in vitro*. Akademia e Shkencave, Instituti i Kërkimeve Biologjike, Tiranë.

Kongjika, E., Sota, V. 2012. Praktika të kulturave bimë indore dhe qelizore. ISBN 978-99956-10-54-8. Shtëpia botuese “Akademia e Shkencave”, Tiranë, 2012.

Kozai T.1991. Acclimatization of Micropropagated Plants Biotechnology in Agriculture and Forest. Vol.17, *Hig Tech and Micropropagation* 1: 127-141.

Kozai T. 1998. Environmental control in plant tissue culture and its application for micropropagation. *IFAC. Proceedings Volumes*. V.24, Issue 11, p. 99-104.

- Kulus D., Miler N. 2021.** Application of plant extract in micropropagation and cryopreservation of bleeding heart: An ornamental plant species. Agriculture 11,542.https://doi.org/10.3390/agriculture 11060542.
- Kumar G.N. M. 2012.** Propagation of Plant by Grafting and Budding
- Kyriakidou, R., Pontikis, C.A. 1983.** Propagation of peach almond hybrid GF-677 *In vitro*. *Plant Propagation*. 29 (4):13-14.
- Loreti F., Morini S., Grilli A. 1985.** Rooting response of PSB₂ and GF-677 rootstock cuttings. *Acta Horticulturae* 173: 261-269.
- Ludden P., Carlson P. S. 1980.** Use of plant cell culture in biochemistry. In: *The Biochemistry of Plant*, (Eds): P.K. Stumpf & E.E. Conn. Vol.I Academic Press, NY, pp.55-90.
- Llambro A., Spahiu E., Bacaj M., Xhelilaj. L. 2004.** Udhëzues për protokollet e prodhimit të integruar të pemëve frutore bërthamore. QTTB Vlorë
- Maragoni B., Antonelli M., Scudellari D., Liverani A. 1985.** The behavior of cv 'Redhaven' on different rootstock. *Acta Hort.*, 17: 94.
- Marino F., Magnaini E., Battistini S., Righetti B. 1989.** Effect of hormone and main carbone Energy sources on *in vitro* propagation of apricot (*Prunus armeniaca* L.) cvs. San Castrese and Portici. *Acta Horticulturae* 293:355-362.
- Marino G., Rosati P. Sagrati F. 1985.** Storage of *in vitro* culture of *Prunus* rootstocks. *Plant Cell Tissue Org. Cult.*, 5: 73-78.
- Maynard B. & Bassuk L.N, 1990.** Rooting Softwood Cuttings of *Acer griseum*: Promotion by Stockplant Etiolation, Inhibition by Catechol. *Hort Sci.* Vol.25 (2). pp.200-202.
- Merja D., Marko V. 1988.** Arritje eksperimentale në shumimin e patates për farë me metodën e kulturës indore *in vitro*. Ne: *Buletini i Shkencave Bujqësore*, 53-64.
- Miller, G. A., Coston, D, C., Denny, E. G., Romeo, M.E. 1982.** *In vitro* propagation of nemaguard peach rootstock. *Hort. Sci.*, 17: 94.
- Minguzzi A. 1989.** Rootstock effect on peach replanting; A ten years trial. *Acta Hort.*, 254: 357-361.
- Moghaddam, R., Yadollahi, 2012.** Micropropagation of GF-677 Rootstock. *Journal of Agricultural Science* Vol. 4. No 5.
- Molassiotis A.N. Dimassi K., Therios I., Diamantidis G. 2003.** Fe-EDTA promotes rooting of rootstock GF-677 (*Prunus amigadalu* x *P.persica*) explants *in vitro*. *Biol. Plant.* 47:141-144.

- Muna A.S., Ahmad A.K., Mahmoud K., Abdul-Rahman K. 1999.** *In vitro* propagation of a semi-dwarfing cherry rootstock. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 59:203-208. Kluwer Academic Publishers.
- Murai Y., Harada H., Yamashita H. 1997.** *In vitro* propagation of apricot (*Prunus armenica* L) cv. *Journal the Japanese Society for Horticultural Science*, 66: 475-480.
- Murashige, T. & Skoog, F. 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassay of tobacco tissue cultures. *Physiol Plant.*, 15: 473-497.
- Nadagouda R.S. Mascarenhas A.F. Madhusoodhanan K.J. 1983.** Clonal multiplication of cardamom by tissue culture. *Journal of Plantation*.
- Namali S., Isikalan Ç., Akbas F., Basaran D. 2011.** Improved *in vitro* rooting of almond (*Amygdalus communis*) cultivar 'Nonpareil'. *Plant Omics Journal* POJ 4(1): 14-18. ISSN: 1836-3644.
- Nas M., Read P.E. 2004.** A hypothesis for the development of a defined tissue culture medium for higher plants and micropropagation of hazelnuts. *Scientia Horticulturae*. 101:189-200.
- Neuman K.H., Kumar A., Omani J. 2009.** Plant cell and tissue culture - A tool in Biotechnology. *Basics and Application*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany. ISBN 978-3-540-93882-8.
- Nicotra A.B., Hofmann M., Siebke K., Ball M.C., 2003.** Spatial patterning of pigmentation in evergreen leaves in response to freezing stresses. *Plant Cell & Environment*. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040>
- Ohta Y. 1991.** Graft transformation the mechanism for graft - induced genetic changes in higher plants. *Euphytica* 55:91-99.
- Olate M.S., Saez P., Rios D. 2009.** Rhizogenesis induction in adult *Juglans regia* L. Cv. Serr tissue induced by indole butyric acid and *Agrobacterium rhizogenes*. *Chilean Journal of Agricultural Research* 69(2): 286-291.
- Özden, A. N. Özden B.E. Ak. M. 2011.** *In vitro* regeneration and micropropagation of GF- 677 hybrid (*Prunus amygdalus* × *P. persica*) rootstock. *ISHS Acta Horticulturae* 912: V International Symposium on Pistachios and Almonds.
- Panchal S.B., Patel C.R., Chaudhary H.L., 2022.** Effect of grafting time and method in custard apple (*Annona squamosa* L.) cv. Sindhan under South Gujarat condition. *The Pharma Innovation Journal*; 11(11): 1011-1016
- Perez- Tornero O., Lopez, I. M., Egea J., Burgos, 2000.** Effect of basal media and growth regulators on the *in vitro* propagation of apricot (*Prunus armenica* L.) cv Canino. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 75: 283-286.

- Pernisova M., 2009.** Clima P., Horak J., Valkova M., Malbeck J., Soucek P., Reichman P., Hoyerova K., Dubova J., Friml J., Zazimalova E., and Hejatko J. 2009. Cytokinins modulate auxin- induced organogenesis in plants via regulation of the auxin efflux. *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*. 106:3609-3614.
- Pillai S.K., Kumar R.B. 1982.** Note on the clonal multiplication of ginger *In vitro*. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 52:397-399.
- Pisoni M.L., Roselli G. 1983.** Interspecific hybridization of (*Prunus persica* x *P. davidiana*) to obtain new peach rootstocks. *Genetica Agraria*. Vol.37. (1-2), P. 178-198.
- Posnette A. F. 1996.** Virus diseases of fruit plants. *Proc. XVII Int. Hort. Cong.* Vol.3.89-93.
- Puchooa, D., Purseramen P. N., Rujbally, B.R., 1999.** Effects of medium support and gelling agent in the tissue culture of tobacco (*Nicotiana tabacum*) by. *Research Journal* – Vol. 3.
- Rama, P., Pontikis, C.A. 1990.** *In vitro* propagation of olive. *Journal of Horticultural Science*.
- Rama P. 2013.** Shtimi i bimeve të Hortikulturës. Parime dhe Teknika. Departamenti i Hortikulturës, Universiteti Bujqësor Tiranë.
- Rom C.R., Carlson R.F. 1987.** Rootstocks for fruit crops. *John Wiley and Sons*.
- Roussos P.A. & Pontikis C.A. 2002.** *In vitro* propagation of olive (*Olea europea* L.) cv Koroneiki. *Plant Growth Reg.* 37, 295–304.
- Roussos P.A., Pontikis C.A., Tsantili E. 2002.** Root promoting compounds detected in olive knot extract in high quantities as a response to infection by the bacterium *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi*. *Plant Science*. 163: 533-541.
- Rugini E., Verma D. C. 1983.** Micropropagation of difficult-to-propagate almond (*Prunus amigdalus*, Batsch) cultivar. *Plant Sci Lett.*, 28: 273-281.
- Ruiz Anchondo T.J., Frattarelli A, Monticelli S, Martinez J, Caboni E. 2010.** Effect of the gelling agent and alternative substrates on micropropagation of peach rootstock GF-677 (*Prunus amygdalus* x *P. Persica*). *XXVIII International Horticultural Congress on Science, Symposium on micro* 923, pp 209-212.
- Ruzic D., Saric M., Cerovic R., Culafic I. 2000.** Relationship between the concentration of macroelements, their uptake and multiplication of cherry rootstock Gisela 5 *in vitro*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 63: 9-14.
- Ruzic D. V & Vujovic T.I. 2008.** The effect of cytokinin types and their concentration on *in vitro*, multiplication of sweet cherry cv. *Hort. Sci.* 35: 12-21.

Sarropoulou V., Dimassi-Theriou K., Therios I. 2016. Mineral strength, sucrose level and mannitol concentration effects on cherry rootstocks micropropagation. *Agriculture & Forestry*, Vol. 62 Issue 3: 07-25, 2016, Podgorica.

Scarpa G.M., Milia M., Satta M. 2000. The influence of Growth Regulators on Proliferation and Rooting of *in vitro* Propagated Myrtle. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 62: 175-179.

Sedlák J., Paprštein F. 2008. *In vitro* shoot proliferation of sweet cherry cultivars Karešova and Rivan. *Hort. Sci. (Prague)*, 35, (3): 95-98.

Sepahvand S., Ebadi A., Kamali K., Ghaemmaghani S.A. 2012. Effect of Myo-Inositol and Thiamine on Micropropagation of GF-677 (*Peach x Almond Hybrid*). *Journal of Agricultural Science*, Vol.4. N. 2.

Shatnawi M.A., Shibli R., Qrunfleh I., Bataineh K., Obeidat M. 2007. *In vitro* propagation and cryopreservation of *Prunus avium* using vitrification and encapsulation dehydration methods. *Journal of Food Agriculture & Environment* Vol.5 (2): 204-208.

Šiško M., Ternjak T., Grobelnik-Mlakar S. 2022. The Effects of Different Cytokinin Types and Their Concentration on *in vitro* Growth of Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Shoots. DOI: <https://doi.org/10.18690/agricultura.19.1.1-6.2022>

Sitton B.G. 1931. Vegetative propagation of the block walnut. AGRIS. Food and Agriculture Organization of the United Nation.

Sota V., 2012. Tezë- Doktorature. “Ruajtja e gjermoplazmës së specieve frutore spontane shqiptare të rrezikuara për zhdukje dhe me vlera ekonomike me metoda të ndryshme të konservimit *in vitro*. *FSHN. Universiteti i Tiranës*.

Sota, V., Kongjika, E. 2013. Kulturat bimore indore dhe qelizore. ISBN: 978-99956-10-59-3. Shtëpia botuese “Akademia e Shkencave”, Tiranë, 2013;

Syrgiannidis G. 1985. Control of iron chlorosis and replant diseases in peach by using the GF-677 rootstock. *Acta Hort.*, 173: 383-388.

Spahiu E. 2006. Të dhëna për prodhimin e çertifikuar të nënshartesave drufrutore pjeshkë GF-677 dhe kumbull Mr.S 2/5 me anë të kulturës *in vitro*. *Mikrotezë- Master Shkencor*. Departamenti i Biologjisë. FSHN Tiranë.

Spahiu E. 2015. Tezë Doktorature: Përcaktimi i faktorëve kimikë, fiziologjik dhe ambiental në shtimin *in vitro* të nënshartesës së pjeshkës GF -677 (*Prunus amigdalus x Prunus persica*). *Fakulteti i Bujqësisë dhe Mjedisit e Arkitekturës së Peisazhit. Universiteti Bujqësor i Tiranës*

Stylianides D.C., Syrgianidis G. D., Almaliotis D. 1988. The peach rootstocks; a review of bibliography with relative observations in Greece. *Agriculture Technology* 12: 34-69.

Sushma K., Vishal R., Sham K. S. 2005. Coservation and propagation of high altitude medicinal and aromatic plant: *Hedychium Spicatum*. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 14: 57-59.

Tabachnik L., Kester D. E. 1977. Shoot culture for almond and almond peach hybrid clones *in vitro*. *Hort Science.*, 1977, 12(6), 545-547.

Tabakov S. G., Yordanov. A.I. and Petrov, M. N. 2018. Influence of rootstocks GF677 and GxN15 (Garnem) on some phenophases on peach cultivars. *Agricultural Sciences*. Vol.10, Issue 24.

Tabakov S. G., Yordanov. A.I. and Petrov, M. N. 2021. Study of the influence of five rootstock on the growth and productivity of three plum cultivars growth in Bulgaria. *Acta Hortic.* 1322, 131-138.

Taiz L., Zeiger E. 2006. Plant Physiology. *Fourth Edition* (Chapter 5,19, 20, 21, 26.).

Thorpe T. Stasolla C., Yeung E.C. De Klerk., G.J., Roberts A., George E.F. 2008. Plant Growth Regulators II: Cytokinins, their Analogues and Antagonists. In: George, E.F., Hall M.A. De Klerk, G.J. *Plant Propagation by Tissue Culture third Ed Vol.1*, Springer, pp. 115-173.

Tsipouridis K., Thomidis T. 2003. Methods to improve *the vitro* culture of GF-677 (peach x almond) rootstock. *New Zealand J. Crop Hort. Sci.*, 31: 361-364.

Tukey H. B. and Brase K.D. 1933. Influence of the scion and of an intermedia test empiece upon the character and development of roots of young apple trees. *Agr.Exp.Sta. Tech. Bul* 218.

USAID, 2022. Global peach and nectarine production to rise in 2022-23 despite U.S.drop.<https://www.freshfruitportal.com/news/2022/09/21/peach-nectarine-production-to-rise/>.

Vaez-Livari, B. & Salehi- Soghadi, Z. 2005. *In vitro* rooting of hybrid GF677 (*Prunus dulcis* x *Prunus persica*). *ISHS Acta Horticulturae*. 726, IV International Symposium on Pistachios Almonds.

Vorpsi, V, 1995. Kultivimi *in vitro* i kumbullës cv. Shëngjine dhe përdorimi i ekstrakteve bimore në shtimin e saj "Tezë- *Doktorature*.UBT, Tiranë.

Vujović T., Ruzić D., Cerović R. 2012. *In vitro* shoot multiplication as influenced by repeated subculturing of shoots of contemporary fruit rootstock. *Hort.Sci.* 39 (3): 101-107.

Wareing P. F. and Philips I. D. J. 1970. The Control of Growth and Differentiation in Plants (2 and Ed). Pergamon Press. Oxford. p.333.

Welander M. 1985. *In vitro* shoot and root formation in apple cultivar Akero. *Ann.Bot.* 55: 249-261.

Yeoman M.M. 1984. Cellular recognition system in grafting. *Encyclopedia of Plant Physiology*. pp. 453-72.

Younas M., Rahman, H., Siddiqui, S., Chaudhary, M., 2008. Effect of different carbon sources on *in vitro* shoot proliferation and rooting of peach GF-677' rootstock. *J. Bot.*, 40(3): 1129-1134.

Yildirim H., Ozden-Tokatli Y., Tilkat E., Akdemir H., Suzerer V., Onay A. 2009. Micrografting of Almond (*Prunus dulcis* Mill) cultivars 'Ferragnes' and 'Ferraduel'. *5th International Symposium on Pistachios and Almonds-ISHS-Sanliurfa-Turkey*, Book of Abstract p.87

Zekaj Zh., Kongjika E., Caushi E. 2000. Studimi i kultivimit *in vitro* të embrionit zigotik të arrës (*Juglans regia* L.). Buletini i Shkencave Bujqësore, Nr. 1: 71-79.

Zuccherelli G. 1979. Metodologie nella moltiplicazione industriale *in vitro* dei portinnesti clonali del pesco GF -677, pp. 147-154.

Zhou H., Li.M., Zhou X., Fan X. 2010. Plant regeneration from *in vitro* leaves of peach roostock "Nemaguard" (*Prunus persica* x *P. Davidiana*). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 101 (1): 79-87.

Katrori i katalogimit dhe informacioni i shtypshkronjes