

## Rezumat

Deși rozmarinul (*Rosmarinus officinalis*) se propagă vegetativ în starea sa naturală, rata de propagare este prea lentă pentru a satisface cererea de răsaduri de înaltă calitate pentru cultivare comercială. Plantele cultivate în câmp sunt supuse stresului de mediu și astfel rezultă un randament scăzut, astfel încât propagarea rozmarinului prin butași are loc pe scară largă în zilele noastre. Tehnica de cultură a țesutului plantelor a fost folosită ca un instrument potențial pentru micropropagare rapidă, pentru a spori cantitatea și calitatea uleiurilor esențiale. A fost standardizată metoda de micropropagare pentru selecția de elită a *Rosmarinus officinalis* prin metoda de ramificare axilară folosind butași de vârf ca explant. O metodă alternativă cu rezultate mai constante pentru a obține diterpeni fenolici din rozmarin este o abordare biotehnologică, și anume cultura tisulară a plantelor. În această lucrare sunt cercetate diferite tipuri de cultură (culturi calus, culturi de suspensie și muguri de la plantele înmulțite în vitro) ale rozmarinului.

Studiul a inclus folosirea tehnicii de cultură tisulară în propagarea plantei de rozmarin (*Rosmarinus officinalis* L.) pornind de la frunze, muguri apicali, muguri axilari, explantări și producția de calus de *Rosmarinus officinalis* L., una dintre cele mai importante surse pentru extragerea de compuși fenolici cu activitate antioxidantă puternică, ce au fost utilizate pentru a evalua efectul regulatorilor de creștere pe formarea în vitro de calus. Primul experiment a constatat în sterilizarea explantărilor de muguri apicali utilizând etanol 70% timp de 30 de secunde ( $C_2H_5OH$ ), clorură de mercur ( $HgCl_2$ ) și hipoclorit de sodiu ( $NaOCl$ ). Clorura de mercur ( $HgCl_2$ ) a produs numărul maxim de frunze de rozmarin sterile sănătoase (5,10) pentru un timp de sterilizare de 6 minute la concentrația de 0,06 mg/l. Cel mai mare număr de frunze de rozmarin sănătoase (2,72) în medie a fost obținută atunci când pentru o perioadă de sterilizare 15 minute cu hipoclorit de sodiu ( $NaOCl$ ) a fost folosit la cantitatea de 0,75 mg/l. După sterilizare cu hipoclorit de sodiu, cel mai mare număr mediu de muguri sănătoși (3,24) a fost obținut când durata de sterilizare a fost de 20 de minute. Valorile

scad la 2,70 muguri sănătoși la durata de 15 minute, iar cel mai mic număr, de 1,18 muguri, a fost obținut pentru un timp de sterilizare de 5 minute. După sterilizare explantelor, a fost studiat efectul a șase concentrații de benzil adenină (BA) și șase concentrațiile de acid acetic naftalină (NAA) și suprapunerea între acestea pe formarea de calus. Studiul a arătat că cel mai mare volum de calus (10,2 mm<sup>3</sup>) a fost produs de suprapunerea între BA și NAA în concentrație de 2,0 și 1,5 mg/l. Greutatea de calus proaspăt și uscat (g) a fost influențată semnificativ de combinația de BA și NAA. Cele mai bune rezultate au fost obținute la concentrații de 2,0 mg/l BA și 2,0 mg/l NAA.

Acest studiu a inclus, de asemenea, utilizarea unor explante tinere de frunze de rozmarin (*Rosmarinus officinalis* L.) pentru a arata efectul regulatorilor de creștere asupra culorilor calusului și producției de embrioni somatici în Vitro utilizând diferite concentrații de NAA (acid acetic naftalină) și BA (benziladenină) la 16 ore lumină și 8 ore întuneric. Combinația concentrațiilor de 1,5 mg/l de NAA și 1,5 mg/l de BA produce calus pur de culoare albă. După 45 de zile de cultivare, cel mai bun procent de embrioni somatici, frunze de plante de rozmarin la concentrația de 2,0 mg/l BA, în mediul MS a fost înregistrat un efect semnificativ, de 10,18. Atunci când concentrațiile de NAA sunt crescute la 2,0 mg/l sau mai mult, cantitatea de calus a scăzut, ceea ce a explicat faptul că concentrațiile NAA ridicate de NAA reduc sau chiar inhibă dezvoltarea calusului. Cu toate acestea, mediul lipsit de NAA a prezentat o inhibare severă a dezvoltării celulare, ceea ce duce la creștere slabă. Cel mai mare efect al suprapunerii între NAA și BA pe numărul mediu de ramuri vegetative din calus a fost obținut la 2,0 mg/l BA și 1,50 mg/l NAA cu numărul mediu de muguri (1,39). Concentrația de 2,0 mg/l BA a prezentat o creștere în numărul mediu de ramuri vegetative, care este 1,39.

A fost investigat efectul vârstei explantelor, regulatorilor de creștere ai plantelor și condițiilor de cultură asupra embriogenezei somatice și producției de acid rozmarinic din explante din frunze de plante *Rosmarinus officinalis* colectate în București. Calusul embriogenic cu numeroși embrioni somatici sferici ar putea fi indus pe explantări derivate din ambele specii și cultivate timp de 3 săptămâni pe un mediu Murashige și Skoog (MS), suplimentat cu 2,0 mg/l (BA) și 1,5 mg/l (NAA).

A fost investigat randamentul de rozmarin (*Rosmarinus officinalis* L.) din compuși activi. Randamentul țesuturilor de calus a fost comparat cu producția de plante intacte. Calusul a fost indus în explantări de frunze și menținut pe un mediu Murashige și Skoog

(MS) suplimentat cu NAA și BA. Maximul de greutate proaspătă de calus a fost obținut în combinația de 2 mg/l NAA și 1,5 mg/l BA pe fotoperioada de 16/8 ore, și a atins 1.780 mg. Analiza GC-MS a extractelor etanolicе din frunze a dezvăluit componentele cele mai abundente;  $\alpha$ -Pinene (16,33%) eucalyptol (10,54%), camfor (7,45%), și isobornyl formate (8,87%). Analiza chimică a extractelor etanolicе din calus a prezentat cei mai mulți compuși Au fost  $\alpha$ -pinen (8,74%), eucaliptol (2,86%), camfor (2,20%) și un metabolit diferită de extract de frunze, respectiv tetracontan (58,16%). la procente mai ridicate decât în extractele din frunze. Alcaloizii de chinolină au fost găsiți pentru prima dată în calus și au fost de mare valoare terapeutică în industria farmaceutică.