REPUBLIKA E SHQIPËRISË
UNIVERSITETI I TIRANËS
FAKULTETI I SHKENCAVE NATYRORE
DEPARTAMENTI I BIOTEKNOLOGJISË

Disertacion

Paraqitur nga:

Msc. Anduela QENDRO

Për gradën shkencore:

DOKTOR I SHKENCAVE

Specialiteti: Bioteknologji Bimore

TEMA: "STUDIMI I ORGANOGJENEZËS *IN VITRO* PËR DY SUBSPECIET E *ASTER ALBANICUS* DEGEN ME QËLLIM RUAJTJEN E GJERMOPLAZMËS "

Udhëheqës shkencor: *Prof. Dr*. Zhaneta ZEKAJ

Mbrohet me datë_____para jurisë:

1. _ Kryetar
2. _ Anëtar (Oponent)
3. _ Anëtar (Oponent)
4. _ Anëtar
5. _ Anëtar

Tiranë, 2015

P Ë R M B A J T J A

MIRËNJOHJE..... **i**

PARATHËNIE..... **ii**

HYRJE..... **iv**

QËLLIMI DHE OBJEKTIVAT E STUDIMIT..... **vi**

KAPITULLI I

KONSIDERATA TË PËRGJITHSHME TEORIKE

1. KARAKTERISTIKA MORFOLOGJIKE- HISTOLOGJIKE TË SPECIES NË STUDIM

1.1.1. Të dhëna të përgjithshme për familjen *Asteraceae* **1**
1.1.2. Statusi dhe vlerat e *Aster albanicus* Degen..... **1**
1.1.3. Taksonomia e *Aster albanicus* Degen..... **2**
1.1.4. Përhapja e *Aster albanicus* Degen..... **2**
1.1.5. Morfologjia e *Aster albanicus* Degen..... **3**

2. MIKROSHUMIMI DHE KONSERVIMI *IN VITRO* I BIMËVE

1.2.1. Mikroshumimi *in vitro* i bimëve..... **4**
1.2.2. Metodat e mikroshumimit..... **6**
1.2.3. Mikroshumimi me anë të organogjenezës direkte..... **7**
1.2.4. Histogjeneza e eksplanteve të kutivuara *in vitro*..... **8**
1.2.5. Mikroshumimi me anë të organogjenezës indirekte..... **9**
1.2.6. Mikroshumimi me anë të embriogjenezës somatike..... **11**
1.2.7. Llojet e kulturave indore..... **11**
1.2.8. Karakteristikat citologjike të zhvillimit të kallusit..... **12**
1.2.9. Realizimi i kulturës *in vitro* tek speciet e ndryshme dhe në speciet e familjes *Asteraceae*..... **13**
1.2.10. Konservimi *in vitro* i bimëve..... **17**
1.2.11. Histogjeneza e eksplanteve të konservuara *in vitro*..... **23**

3. VEÇORITË E EPIDERMITEVE TEK SPECIET E FAMILJES *ASTERACEAE*

1.3.1. Struktura, funksionet dhe llojet e gojëzave në familjen *Asteraceae*..... **24**
1.3.2. Struktura, funksionet dhe llojet e trikomave në familjen *Asteraceae*..... **28**

KAPITULLI II

MATERIALET DHE METODA

2.1. Materiali bimor **33**

2.2. Pajisjet e përdorura për studim..... **33**
2.3. Metodat e studimit..... **33**
2.3.1. Kultivimi *in vitro*..... **33**
2.3.2. Konservimi *in vitro*..... **37**
2.3.3. Studimi histologjik..... **37**
2.3.4. Përpunimi statistikor i të dhënave..... **40**

KAPITULLI III
REZULTATE DHE DISKUTIME

3.1. Kushtet e rritjes së *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja dhe subsp. *albanicus*..... **41**
3.2. Organogjeneza e sytheve të *Aster albanicus* Degen: subsp.*paparistoi* Qosja dhe subsp. *albanicus*..... **42**
3.2.1. Stadi i proliferimit..... **42**
3.2.2. Reagimi i dy subspecieve gjatë stadit të subkulturës..... **49**
3.2.3. Histogjeneza e eksplanteve të dy subspecieve..... **60**
3.3. Konservimi *in vitro*..... **66**
3.3.1. Konservimi me anë të reduktimit të temperaturës dhe të ndriçimit..... **66**
3.3.2. Konservimi me anë të reduktimit të përqendrimit të fitohormoneve ose të rregullatorëve të rritjes në terrenin ushqyes..... **74**
3.3.3. Krahasimi i të dy metodave në konservimin e *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja (popullata e Divjakës)..... **77**
3.3.4. Histogjeneza e eksplanteve të dy subspecieve..... **82**
3.4. Histogjeneza e strukturave gjethore të dy subspecieve..... **86**
3.4.1. Studimi i aparatit stomatal……..... **86**
3.4.2. Tipi i trikomave..... **99**
3.5. Organogjeneza e eksplanteve gjethore të *Aster albanicus* Degen: subsp. *paparistoi* Qosja dhe subsp. *albanicus*..... **105**
3.5.1. Morfogjeneza e eksplanteve gjethore të dy subspecieve..... **106**
3.5.2. Histogjeneza e eksplanteve të dy subspecieve..... **113**

IV. PERFUNDIME..... **116**
V. REKOMANDIME..... **118**
VI. LITERATURA..... **119**
LISTA E SHKURTIMEVE..... **138**
PËRMBLEDHJE; ABSTRACT..... **139**

MIRËNJOHJE

Mirënjohjen dhe falënderimet e mia të veçanta do të dëshiroja fillimisht t'i shpreh udhëheqëses time shkencore, ***Prof. Dr.* Zhaneta Zekaj**, për mbështetjen, udhëheqjen dhe bashkëpunimin e saj të frytshëm gjatë gjithë kohës së këtij kërkimi dhe përgatitjes së këtij disertacioni.

Gjithashtu, do të dëshiroja të shprehja falënderimet dhe mirënjohjen time ndaj stafit të Departamentit të Bioteknologjisë të Fakultetit të Shkencave të Natyrës dhe në veçanti ndaj përgjegjëses së departamentit ***Prof. Dr.* Ariola Bacu**, për mbështetjen gjatë procesit të kryerjes së doktoratës pranë këtij departamenti.

Për ndihmesën e dhënë gjatë realizimit të ekspeditave për grumbullimin e materialit bimor, falënderoj ***Prof. Dr.* Murat Xhulaj** dhe ***Prof. Dr.* Alfred Mullaj**.

Në këtë studim më kanë mbështetur dhe inkurajuar profesionalisht me eksperiencën e tyre ***Akad. Asoc. Prof. Dr.* Efigjeni Kongjika** dhe ***Dr.* Valbona Sota** të cilat i falënderoj përzemërsisht.

Një falënderim të veçantë shpreh për laboranten **Rita Dafa** që me ndihmën, përkrahjen, dashurinë dhe eksperiencën e saj ka dhënë një kontribut të veçantë gjatë gjithë kohës në punën eksperimentale të kultivimin *in vitro* të eksplanteve bimore.

Një kontribut të madh në përpunimin statistikor të materialeve të analizuara më ka dhënë ***Doc. Dr.* Romeo Mano**, i cili me përpikërinë dhe punën e palodhur ka luajtur një rol tepër të rëndësishëm, duke rritur vlerat e këtij studimi.

Në realizimin e këtij disertacioni më kanë mbështetur dhe inkurajuar kolegët e mi të Universitetit të Gjirokastrës, ***Prof. Dr.* Kostaq Hila, *Dr.* Kostaq Bezhani, *Prof. Asoc. Dr.* Sokrat Gjini, *Prof. Asoc. Dr.* Rexhep Shkurti** dhe ***Dr.* Gligor Paspali**.

Një falënderim të veçantë, e rezervoj për **komisionin** e nderuar të mbrojtjes së këtij disertacioni.

Për mbështetjen dhe mirëkuptimin e tyre do të dëshiroja të falënderoja gjithë **miqtë** e mi.

Së fundi (jo nga rëndësia), falënderim tepër të veçantë kam për **familjen time**, pa ndihmën e së cilës nuk do të arrija në përfundimin e këtij disertacioni.

Ju falënderoj përzemërsisht!
Anduela

PARATHËNIE

Në kuadër të studimeve bashkëkohore që kryhen për vlerësimin e specieve të rralla dhe të rrezikuara një aspekt i veçantë është dhe shtimi dhe konservimi in vitro i tyre. Studimi i organogjenezës dhe embriogjenezës së këtyre specieve në kushtet e mikroshumimit dhe konservimit in vitro përbën një nga aspektet me rëndësi teorike dhe praktike të vlerësimit të tyre. Sot në botë ka një numër shumë të madh të specieve të rralla dhe të rrezikuara që për shkak të ndikimit të kushteve të ndryshuara mjedisore apo të faktorëve të tjerë, veçanërisht atyre njerëzore tentohet të përfshihen në konservimin in situ dhe in vitro, në mënyrë që të mund të realizohet përhapja e mëtejshme e tyre në zonat e dëmtuara apo dhe më gjerë. Një seri e dokumenteve ndërkombëtare dhe e strategjive të vendeve që i kanë nënshkruar ato e kanë pasqyruar këtë domosdoshmëri.

Rreth 1800 specie bimore janë të përfshira në Listën e Kuqe të Florës së Evropës në shkallë të ndryshme të kërcënueshmërisë. Për shumicën e këtyre specieve rekomandimet janë për ruajtjen e gjermoplazmës me konservim ex situ, kultivimin e tyre në kopshte botanike dhe konservimin in vitro në bankat gjenetike.

Synimi kryesor i përdorimit të këtyre metodologjive është që nëpërmjet teknikave efikase të rikuperohet erozioni i diversitetit gjenetik, që është vërejtur për një shumicë specieve endemike dhe të rrezikuara të zonës së Mesdheut dhe veçanërisht të Gadishullit Ballkanik. Në vendin tonë vitet e fundit, biodiversiteti gjenetik ka njohur humbje të ndjeshme si rezultat i shtrirjes së zonave urbane, shpyllëzimeve masive dhe streseve të ndryshme, si dhe nga shfrytëzimi pa kriter i specieve komerciale. Këto rrethana e shtojnë nevojën e ruajtjes së resurseve gjenetike me anë të instalimit të bankave gjenetike me fara apo dhe të materialit vegjetativ.

Metodat in situ dhe ex situ të ruajtjes së gjermoplazmës së bimëve po përdoren gjerësisht në ditët e sotme për të ruajtur popullatat e ndryshme bimore në rrezik zhdukjeje. Mikroshumimi i bimëve me anë të kulturës in vitro nga një pjesë e vogël e eksplantit është shumë i rëndësishëm për prodhimin e një numri të madh të bimëve për konservimin in vitro të gjermoplazmës së tyre. Gjatë këtyre proceseve është e nevojshme që materialet bimore të ruhen identike me materialet bimore që rriten në natyrë. Të dhënat nga autorë të ndryshëm flasin dhe për raste të ndikimit ndryshues të terreneve në të cilat këto materiale bimore rriten, mikroshumohen dhe konservohen. Ndryshueshmëria e tipareve të tyre, bën të nevojshme studimin e strukturave histologjike dhe proceseve të organogjenezës në të gjithë fazat e rritjes, mikroshumimit dhe konservimit të këtyre specieve.

Me anë të konservimit in vitro, gjermoplazma e bimëve mund të ruhet për një kohë të gjatë, pa pasur nevojë për karantinë gjatë shkëmbimeve, gjë që e ka bërë këtë metodë shumë të aplikueshme për speciet e rrezikuara. Materiali bimor në kulturat indore me këtë metodë rritet me intensitet minimal në një nivel optimal të mbijetesës. Këto metoda janë aplikuar gjerësisht për konservimin e një numri të madh speciesh në mënyrë që të kufizohet numri i subkulturave dhe të ruhet qëndrueshmëria gjenetike e specieve në kushte sterile.

Studimi i histogjenezës së bimëve në kulturë in vitro në nivel të mikroskopisë optike dhe asaj elektronike, sqaron problemet e ndikimit të faktorëve të ndryshëm në organogjenezën e këtyre bimëve. Struktura e një bime të lartë, ndërtohet progresivisht në sajë të një sërë dukurish shoqëruese të organogjenezës dhe histogjenezës. Njohja e tyre, si prodhimi i qelizave të reja, formimi i meristemave dhe fillimeve të organeve dhe

vazhdimësia e proceseve të tilla të brendshme, mund të ndryshohet nga agjentë të tillë si rregullatorët bimorë të rritjes, traumat e ndryshme ose kushtet e ndryshme. Në këto rrethana shtohet nevoja e kontrollit histo-citologjik për të e ruajtur resurset gjenetike në formën e tyre identike.

Studimi "Studimi i organogjenezës in vitro për të dy subspeciet e Aster albanicus Degen me qëllim ruajtjen e gjermoplazmës" i ndërmarrë nga ne në kuadrin e gjithë sa u tha më sipër pasqyron njohjen e fazave të organogjenezës direkte dhe indirekte për të dy subspeciet e Aster albanicus Degen që rriten në Shqipëri. Nga këto dy subspecie Aster albanicus albanicus dhe Aster albanicus paparistoi Qosja, kjo e fundit është vlerësuar në "Librin e Kuq" si specie endemike, e rrallë dhe e rrezikuar.

Shumë aspekte të këtij studimi përbëjnë risi për punimet në fushën e kulturave in vitro për speciet endemike, të rralla dhe të kërcënuara për zhdukje. Të tilla drejtime të reja për subspeciet e studiuara mund të konsiderohen:

- *Studimi i histogjenezës së eksplanteve të këtyre dy subspecieve gjatë kultivimit, mikroshumimit dhe konservimit in vitro;*
- *Krahasimi i organogjenezës direkte dhe indirekte për të dy subspeciet Aster albanicus albanicus dhe Aster albanicus paparistoi Qosja dhe variacionet që u vërejtën gjatë studimit;*
- *Konservimi in vitro i eksplanteve të dy subspecieve me dy metoda të rritjes minimale: konservimi me anë të reduktimit të temperaturës dhe të ndriçimit dhe konservimi me anë të reduktimit të përqendrimit të fitohormoneve ose rregullatorëve të rritjes në terrenin ushqyes;*
- *Përpunimi statistikor i matjeve të realizuara për të nxjerrë në pah variacionet në kulturat in vitro të analizuara për të dy subspeciet Aster albanicus albanicus dhe Aster albanicus paparistoi Qosja.*

HYRJE

Në vendin tonë ekzistojnë rreth 30 specie endemike dhe rreth 150 të tjera subendemike me areal Shqipërinë dhe vende të tjera të Ballkanit.

Specia *Aster albanicus* Degen me status subendemike **(**Vangjeli *et al.,* 2000) në vendin tonë përfaqësohet nga dy subspecie: *Aster albanicus paparistoi* Qosja *dhe Aster albanicus albanicus.*

Subspecia *Aster albanicus* Degen *paparistoi* Qosja vlerësohet si endemike, e rrallë dhe e rrezikuar me vlera biodiversiteti. Ky takson është klasifikuar si subspecie endemike shqiptare për shkak të ndryshimeve në një tipar morfologjik, gjatësia e frutit aken qartësisht më i shkurtër se xhufka **(**Qosja & Puto, 1982-1983). Kjo subspecie konsiderohet e rrallë (Vangjeli *et al.,* 2000), sepse është e përhapur në një areal shumë të kufizuar, kryesisht haset në zonën ranishte bregdetare me pyje halore Mesdhetare me lagështi. Sot ajo haset në një zonë shumë të kufizuar në brezin ranor të pyllit të Divjakës. Përhapja e kufizuar dhe dëmtimi i saj nga faktori human e bën këtë subspecie të përfshihet në statusin e rrezikuar. Për këto arsye, subspecia *Aster albanicus paparistoi* Qosja është e përfshirë në Listën e Kuqe të bimëve të rrezikuara të Shqipërisë **(**Marku *et al.,* 2007).

Subspecia *Aster albanicus albanicus* që rritet në shkëmbinj serpentinorë me përhapje shumë të gjerë në disa zona të Shqipërisë së Mesme dhe të Veriut, nuk është e përfshirë në Listën e Kuqe të bimëve të rrezikuara. Ajo ka statusin e species subendemike dhe është përfshirë për krahasim në studim, për të vlerësuar diversitetin morfo-histologjik të eksplanteve dhe reagimin ndaj kultivimit dhe konservimit *in vitro* të tyre.

Në literaturën e huaj specia *Aster albanicus* Degen me dy subspeciet përfaqësuese nuk është e trajtuar, as në drejtim të karakterizimit cito-histologjik as në drejtim të kultivimit *in vitro* të saj. Specia *Aster albanicus* Degen përfaqëson një specie pak të studiuar, gjë për të cilën kemi hasur vështirësi në literaturën e huaj.

Aspekte të ndryshme të studimit të këtyre subspecieve hasim në literaturën Shqiptare në këto drejtime:

1. *Përhapja*

Aster albanicus Degen është një specie native, e përhapur në një zonë të kufizuar në Evropën Juglindore, prandaj dhe emërtohet si specie subendemike e Ballkanit. Specia *Aster albanicus* Degen është një bimë barishtore shumëvjeçare, që rritet në vende të thata shkëmbore, kryesisht shkëmbinj ultrabazikë si dhe në ranishte bregdetare **(**Marku *et al.,* 2007). Kjo specie, është përhapur në zona të ndryshme të Shqipërisë, së mesme, veriore dhe verilindore, në lartësitë 0-2100 m. Në territorin e Shqipërisë janë të përhapura dhe të përshkruara dy subspeciet e *Aster albanicus* Degen: subsp. *paparistoi* Qosja, që rritet në zonat ranore të bregdetit Adriatik në pyjet e pishës **(**Qosja & Puto, 1982-1983, Vangjeli *et al*., 2000) dhe subsp.*albanicus* që rritet në shkëmbinj serpentinorë dhe ndodhet e përhapur në Bosnjë dhe në Kosovë (Prodanoviç *et al.,* 2008; Shuka & Hallaçi., 2010).

2. *Morfologjia*

Individët e *Aster albanicus* Degen nga pikëpamja morfologjike, paraqiten si bimë barishtore shumëvjeçare, me lartësi 15-35cm (Tutin *et al.,* 1993). Përveç kërcellit mbitokësor, ato kanë dhe kërcellin nëntokësor tip rizome, me anë të të cilit realizon shumimin vegjetativ **(**Zekaj *et al.,* 2007).Gjethet janë dy llojesh: gjethe bazale në formë

elipsoide, që hasen në muajt janar deri në maj; më vonë në kërcellin mbitokësor, që është dhe mbajtës i luleve në periudhën e lulëzimit shfaqen gjethet heshtake, më të mprehta dhe më të gjata. Dy llojet e gjetheve janë të veshura me trikoma. Kaptinat në vastak ose të vetmuara. Lulet kanë ngjyrë manushaqe **(**Marku *et al.,* 2007). Frutat janë aken me xhufka në të dyja popullatat e studiuara, por ndryshimi në madhësinë e xhufkës ka qenë tipari që ka bërë ndarjen midis dy subspecieve të vendit tonë:

-Subsp. *albanicus*: akeni afërsisht aq i gjatë sa xhufka.

-Subsp. *papristoi* Qosja: akeni qartësisht më i shkurtër se xhufka (Qosja & Puto, 1982-1983).

3. Histo-citologjia

Në popullatat e Asterit të studiuara *in vivo* rezulton se ekzistojnë dy lloj trikomash: jogjëndërore dhe gjëndërore (të hasura në strukturat epidermale gjethore dhe tek sythat lulorë). Aparati stomatal (gojëzor) në epidermën e gjetheve përfaqësohet nga qelizat e gojëzave, që përmbajnë dhe qelizat shoqëruese. Këto janë qeliza epidermale në formë të çrregullt dhe numri i tyre varion nga 4-5, gjë që i bën të klasifikohen në tipin anomocitik **(**Zekaj *et al.,* 2007). Është bërë vlerësimi i numrit kromozomik për popullatat e species *Aster albanicus* Degen në Shqipëri. Nga studimi rezulton që në katër popullatat e *Aster albanicus* Degen në Shqipëri, numri kromozomik diploid 2n=18 është mbizotërues (Zekaj *et al.,* 2007). Në materialin e analizuar për subspecien e Divjakës janë gjetur krahas pjastrave kromozomike me 2n=18 dhe pjastra kromozomike me 2n=20. Kariotipi paraqitet pothuajse simetrik për shkak të pranisë së të dy tipeve të kromozomeve: metacentrikë (m) dhe submetacentrik (sm).

4. *Kultivimi in vitro*

Gjatë kultivimit *in vitro* të eksplanteve vegjetative (meristema dhe sythe) *Aster albanicus* Degen *subsp. paparistoi Qosja* popullata e Divjakës ka shfaqur reagim shumë pozitiv në organogjenezën direkte (Zekaj *et al.*, 2003; Kongjika *et al.*, 2004,a). Kultivimi *in vitro* i eksplanteve të gjetheve me organogjenezë indirekte (Kongjika *et al*., 2004,b) jep gjithashtu të dhëna interesante të zhvillimit të këtyre eksplanteve.

Studimi i aspekteve të veçanta teorike dhe praktike kanë rëndësi në kuadrin e ruajtjes së florës autentike. Në këtë disertacion është studiuar organogjeneza e të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen në Shqipëri, në kulturë *in vitro* për të vëzhguar si reagojnë këto dy subspecie. Studimi i fazave të organogjenezës dhe histogjenezës së eksplanteve të tyre gjithashtu shërben për të përcaktuar rrugët dhe eksplantet më të përshtatshme për konservimin *in vitro* të tyre pa dëmtuar identitetin e tyre. Subspecia *Aster albanicus paparistoi* Qosja është përfshirë në një program konservimi me metodën bioteknologjike të kulturave *in vitro*. Rëndësia e këtij studimi qëndron se histogjeneza e zhvillimit të eksplanteve vegjetative dhe ruajtja *ex situ* me anë të metodave të konservimit afatmesëm të eksplanteve të zhvilluara në rrugën e organogjenezës direkte nuk është studiuar më parë.

QËLLIMI DHE OBJEKTIVAT E STUDIMIT

- Studimi i organogjenezës *in vitro* i dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen që rritet në Shqipëri;

- Kultivimi dhe mikroshumimi *in vitro* i dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen në Shqipëri;

- Analiza e parametrave morfo – histologjikë e dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen të kultivuara *in vitro*;

- Përdorimi i metodave të kultivimit dhe prodhimit të individëve "identikë" nga ana gjenetike për të dy subspeciet e *Aster albanicus Degen* në Shqipëri;

- Gjetja e metodave optimale për mikroshumimin e dy subspecieve në studim. Ruajtja *ex situ* e gjermoplazmës së dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen me metodat e konservimit *in vitro*;

- Aplikimi i metodave të ndryshme për konservimin *in vitro* (të rritjes minimale temperatura 4ºC dhe i modifikimit të mjedisit ushqyes);

- Analiza e parametrave morfo - histologjikë të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen të konservuara *in vitro* me dy metoda *(*të rritjes minimale temperatura 4ºC dhe i modifikimit të mjedisit ushqyes).

- Përpunimi statistikor i të dhënave të marra si rezultat i matjeve morfo - histologjike për variacionin e reagimit të dy subspecieve gjatë kultivimit, mikroshumimit dhe konservimit.

KAPITULLI I

KONSIDERATA TË PËRGJITHSHME TEORIKE

1. KARAKTERISTIKA MORFOLOGJIKE - HISTOLOGJIKE TË SPECIEVE NË STUDIM

1.1.1. Të dhëna të përgjithshme për familjen *Asteraceae*

Familja *Asteraceae* i përket bimëve Angjiosperme (farëveshurave). Familja *Asteraceae* ose *Compositae* (e njohur edhe si familja luledielli) është familja më e madhe e bimëve të lulëzuara në aspektin e numrit të llojeve (Omotable, 1965). Familja përbëhet nga 1620 gjini dhe më shumë se 23 600 specie me përhapje kryesisht në rajonet tropikale dhe subtropikale (Stevens, 2001). Shumica e specieve janë bimë barishtore, por familja përfshin gjithashtu shkurre drunore, liane dhe epifite njëvjeçare (Olorode, 1984). Shumica e bimëve të familjes *Asteraceae* i kanë lulesat të papërcaktuara të tipit kaptinë. Lulet janë aktinomorfe ose zigomorfe. Gjethet janë të thjeshta. Bimët prodhojnë fruta të tipit aken (Panero & Bonnie, 2012).

Shumë bimë në familjen *Asteraceae* janë ekonomikisht të rëndësishme si perimet jeshile me vlera ushqyese, bimët zbukuruese dhe barërat e këqija. Disa bimë kanë vlera mjekësore. Speciet e familjes *Asteraceae* janë përdorur në mjekësinë popullore në shumë vende të botës (Swanepoel, 1997; Van Wyk *et al*, 1997.). Shumica e barnave tradicionale të përdorura nga njerëzit i përkasin familjes *Asteraceae* (Salie *et al.*, 1996). Ekstraktet e *Artemisia annua* dhe *Bidens pilosa* kanë qenë efektive në trajtimin e malaries (Brandao *et al*., 1997; Muller *et al*., 2000; Tan *et al*., 2000) dhe ekstraktet e *Helichrysum melanacme* kanë treguar aktivitet kundër M. tuberculosis (Lall & Meyer, 1999).

Klasifikimi i familjes *Asteraceae* dominohet nga nënfamilja e madhe *Asteroideae*, e cila përmban më shumë se 70% të specieve të familjes. Nga studimet molekulare, (Kim & Jansen, 1995; Panero & Funk, 2008) kohët e fundit janë gjetur brenda *Asteroideaeve* tre linja kryesore dhe janë njohur në nivel fisi (Robinson, 2004, 2005) si *Asterodae*, *Helianthodae* dhe *Senecionodae*. Nënfamiljet e tjera të mëdha përfshijnë *Carduoideae* dhe *Cichorioideae*, secila përmban më shumë se 2000 lloje. Të gjitha subfamiliet e tjera përmbajnë më pak se 1000 specie me *Gymnarrhenoideae* dhe *Hecastocleidoideae* përmban vetëm një specie. Disa nga gjinitë kryesore të kësaj familje janë: *Aster, Helianthus, Cosmos, Dahlia, Chrysanthemum, Tagetes* etj.

1.1.2. Statusi dhe vlerat e *Aster albanicus* Degen

Aster albanicus Degen është bimë barishtore zbukuruese. Në studimin tonë ka dy subspecie përfaqësuese: subsp. *paparistoi* Qosja dhe subsp. *albanicus*. Subspecia *Aster albanicus* Degen *paparistoi* Qosja vlerësohet si subspecie endemike, e rrallë dhe e rrezikuar me vlera biodiversiteti. Ky takson është klasifikuar si subspecie endemike shqiptare, për shkak të ndryshimeve në një tipar morfologjik, gjatësia e frutit aken qartësisht më i shkurtër se xhufka **(**Qosja & Puto, 1982-1983). Kjo subspecie është takuar në areal shumë të kufizuar, në ranishte bregdetare në pyje halore Mesdhetare me lagështi të zonës së Divjakës **(**Vangjeli *et al.,* 2000). Pikërisht për shkak të arealit shumë të

kufizuar të përhapjes dhe për shkak të dëmtimit të saj nga faktori njerëzor, kjo subspecie ka dhe statusin e rrezikuar. Subspecia *Aster albanicus* Degen *paparistoi* Qosja është e përfshirë në Listën e Kuqe të bimëve të rrezikuara të Shqipërisë **(**Marku *et al.,* 2007). Subspecia *Aster albanicus albanicus* që rritet në shkëmbinj serpentinorë me përhapje shumë të gjerë në disa zona të Shqipërisë së Veriut nuk është e përfshirë në Listën e Kuqe të bimëve të rrezikuara. Ajo ka statusin e species subendemike dhe është përfshirë për krahasim në studim për të vlerësuar diversitetin morfo-histologjik të eksplanteve dhe reagimin ndaj kultivimit dhe konservimit *in vitro* të tyre.

1.1.3. Taksonomia e *Aster albanicus* Degen

Specia *Aster albanicus* Degen bën pjesë në:
Mbretërinë- Bimë, **Ndarja-** Angiosperms, **Klasa-** Dicotyledones, **Rendi-**Asterales, **Familja-** Compositae, **Subfamilja-** Asteroideae, **Gjinia-** Aster **(**Tuttin *et al.,* 1993).

Kjo specie në Shqipëri ka dy subspecie përfaqësuese: *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* dhe subsp. *paparistoi Qosja* (Vangjeli *et al.,* 2000). *Aster albanicus* subsp. *paparistoi* Qosja. Ky emër është sinonim i *Galatella albanica* Degen. TICA e raporton atë si sinonim (rekord 854BA818-8E8B-4FDC-8BDE-5904274D96EB) nga të dhënat origjinale të botimit: Qosja në "Punime të Qendrës së Kërkimeve Biologjike, 3.1985".

1.1.4. Përhapja e *Aster albanicus* Degen

Aster albanicus Degen është një specie native e përhapur në një zonë të kufizuar në Evropën Juglindore (Fig. 1.1.1), prandaj dhe emërtohet si specie subendemike e Ballkanit.

Specia *Aster albanicus* Degen është një bimë barishtore shumëvjeçare, që rritet në vende të thata shkëmbore, kryesisht shkëmbinj ultrabazikë si dhe në ranishte bregdetare **(**Marku *et al.,* 2007). Kjo specie është përhapur në zona të ndryshme të Shqipërisë së Mesme, Veriore dhe Verilindore, në lartësitë 0-2100 m. Në territorin e Shqipërisë janë të përhapura dhe të përshkruara dy subspeciet të *Aster albanicus* Degen: subsp. *paparistoi* Qosja dhe subsp. *albanicus.*

Aster albanicus Degen subsp. *paparistoi* Qosja rritet në zonat ranore të bregdetit Adriatik në pyjet e pishës **(**Qosja & Puto, 1982-1983, Vangjeli *et al*., 2000**).** *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja është vlerësuar si specie endemike e Shqipërisë, e rrallë dhe e rrezikuar **(**Marku *et al.,* 2007). Individët e popullatës së Divjakës rriten në kushte të ndriçimit të kufizuar nën kurorat e pishave, afër bregut të detit. Lagështia është e mjaftueshme sepse ekziston mbulesa bimore e pyllit dhe afërsia me detin.

Aster albanicus Degen subsp. *albanicus* rritet në gjendje native në shkëmbinjtë serpentinorë (Stevanovic *et al.,* 2003). Ka të dhëna për përhapjen e kësaj subspecie dhe në Bosnjë dhe në Kosovë (Prodanoviç *et al.,* 2008; Shuka & Hallaçi, 2010). Individët e popullatës së Shkopetit rriten në lartësi, në kushtet e ndriçimit të fortë. Shkëmbi është i çveshur dhe rrëshqitës, prandaj këta individë rriten në kushtet e thatësirës **(**Zekaj *et al.,* 2007).

Figura 1.1.1. Harta e përhapjes së species *Aster albanicus* Degen në Evropë http:// Floraeuropea.com.

1.1.5. Morfologjia e *Aster albanicus* Degen

Individët e *Aster albanicus* Degen nga pikëpamja morfologjike paraqiten si bimë barishtore shumëvjeçare, me lartësi 15-35cm (Tutin *et al.,* 1993). Përveç kërcellit mbitokësor, ato kanë dhe kërcellin nëntokësor tip rizome, me anë të të cilit realizojnë shumimin vegjetativ **(**Zekaj *et al.,* 2007) (Fig. 1.1.2).

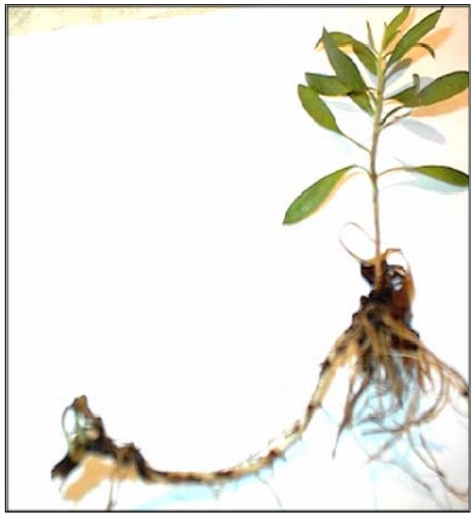


Figura 1.1.2. Morfologjia e organeve vegjetative të Aster *albanicus* Degen. **(**Zekaj *et al.,* 2007).

Gjethet janë dy llojesh: gjethe bazale në formë elipsoide, që hasen në muajt janar deri në maj. Më vonë, në kërcellin mbitokësor, që është dhe mbajtës i luleve në periudhën e lulëzimit shfaqen gjethet heshtake, më të mprehta dhe më të gjata. Dy llojet e gjetheve

janë të veshura me trikoma. Kaptinat në vastak ose të vetmuara. Lulet kanë ngjyrë manushaqe **(**Marku *et al.,* 2007). Nga vrojtimet e materialit të mbjellë dhe të zhvilluar në minierë vërehen dallime morfologjike në kurorën e lules, për individët e dy popullatave. Në individët e Divjakës, lulet paraqiten me kurorë të çlirët (Fig. 1.3a), kurse në individët e Shkopetit, lulet paraqiten me kurorë më kompakte dhe të rregullta (Fig. 1.3b). Ndryshime midis popullatave ka për kohën e lulëzimit. Individët e popullatës së Shkopetit lulëzojnë në mesin e shtatorit, ndërsa më të mëvonshmet paraqiten në lulëzim individët e popullatës së Divjakës, të cilët gonxhojnë në shtator dhe lulëzojnë në fillim të tetorit (Zekaj *et al.,* 2005).

a. **b.**

Figura 1.1.3. Morfologjia e luleve të Aster *albanicus* Degen: subsp. *paparistoi* Qosja(**a**), dhe subsp. *albanicus* (**b**).

Frutat janë aken me xhufka në të dyja popullatat e studiuara, por ndryshimi në madhësinë e xhufkës ka bënë tipari që ka bërë ndarjen midis dy subspecieve të vendit tonë:

- Subsp. *albanicus:* akeni afërsisht aq i gjatë sa xhufka;
- Subsp. *paparistoi* Qosja: akeni qartësisht më i shkurtër se xhufka (Qosja & Puto, 1982-1983).

2. MIKROSHUMIMI DHE KONSERVIMI *IN VITRO* I BIMËVE

1.2.1. Mikroshumimi *in vitro* i bimëve

Larmia e madhe e shumimit vegjetativ natyral reflekton potencialin e fuqishëm të bimëve për të riprodhuar veten në mënyrë aseksuale. Kjo aftësi është baza e shumimit *in vitro* që nuk krijon procese të reja brenda bimës, por vetëm stimulon potencialin natyror për të kryer rritjen dhe shumimin me efiçiencë të lartë dhe me mënyra të përshtatshme. Riprodhimi vegjetativ, si ai natyral dhe ai me ndërhyrjen e njeriut fillon nga pjesë vegjetative si kërcelli, rrënja apo gjethet. Në këtë riprodhim nuk ka përzierje gjenesh, siç ndodh në riprodhimin seksual brenda lules, prandaj bimët e reja të prodhuara janë identike me bimët e origjinës.

Kultura *in vitro* është një bashkësi teknikash që lejon kultivimin e pjesëve bimore si fara, organe, eksplante, inde, qeliza dhe protoplaste në terrene ushqyese artificiale në kushte të kontrolluara dhe aseptike (Dirr & Heuser, 1987). Të gjitha organet bimore kanë

potencial të lartë për rigjenerim. Në kulturën e organeve ekzistojnë qendra meristematike të organizuara që janë të afta të prodhojnë hormone dhe se organet e izoluara në këtë mënyrë janë autonome ndaj furnizimit me hormone d.m.th janë autotrofe. Kurse në kulturat indore mungojnë qendrat meristematike të organizuara dhe ato paraqiten heterotrofe ndaj hormoneve. Kjo nuk do të thotë se qelizat në kulture indore kanë humbur informacionin gjenetik për sintezën e hormoneve, por vetëm se ato janë të paafta për të përdorur këtë informacion gjenetik. Përdorim të veçantë, vetia e totipotencës ka në shumimin në kulturë *in vitro*.

Shpesh herë, metodat klasike të shumimit vegjetativ *in vivo* nuk japin rezultate të kënaqshme, pasi janë shumë të ngadalta, shumë të vështira dhe me shumë shpenzime, ndonjëherë edhe plotësisht të parealizueshme (Kongjika *et al.*, 2002; Nalawade *et al.*, 2003; Neuman *et al*., 2009). Për këtë arsye, në këto vitet e fundit, njohuritë mbi shumimin *in vitro* të bimëve janë zgjeruar shumë. Shumimin *in vitro* ka avantazhe të shumta në krahasim me shumimin tradicional (Pierik, 1988; Kyte, 1991, Bowes, 1999 George *et al.*, 2008):

- Shumimi *in vitro* është më i shpejtë se ai *in vivo*;
- Është i mundur shumimi i disa specieve që nuk mund të shumohen *in vivo*;
- Rritja e bimëve *in vitro* është më e fuqishme për shkak të juvenilitetit dhe mungesës së patogjenëve;
- Eliminohet efekti i sezoneve dhe prodhohen bimë gjatë gjithë vitit si pasojë e kushteve të përsosura (terrenet ushqyese dhe kushtet fizike);
- Prodhohen bimë identike me bimët mëma në një numër jashtëzakonisht të madh duke u nisur nga sasi shumë të vogla të materialit fillestar;
- Metoda është mjaft e përshtatshme për prodhimin e bimëve të shëndetësuara dhe të certifikuara në sasi shumë të mëdha;
- Lehtësohet transporti i bimëzave "pa tokë" ndërmjet shteteve të ndryshëm duke evituar karantinën;
- Mikroshumimi rezulton me kosto të ulët që arrihet nga kursimi në sipërfaqe të bimëve mëma dhe të vete kulturës *in vitro,* që kryhet në laboratorë.

Brenda shumimit vegjetativ, sot përdoren teknikat e kulturës *in vitro* me avantazhe (Kameswara, 2004):

- Fitimi i pasardhësve homogjenë në speciet me pjalmim të kryqëzuar;
- Kultura e meristemës konsiderohet rrugë e sigurt për prodhimin e bimëve "ekologjike", me përparësi për kultivim biologjik dhe për shkëmbim gjermoplazme midis vendeve;
- Ruajtja e gjermoplazmës në banka gjenetike *in vitro* për zgjedhjen e formave optimale gjenetike.

Rritja e bimëve *in vitro* në një mjedis të kontrolluar, mbështetur në njohjen e thellë të kushteve të kulturës dhe natyrës së materialit bimor siguron shumimin klonal efektiv të gjenotipeve gjenetikisht superiore dhe të bimëve shumë të rëndësishme në aspektin ekonomik (Iliev *et al*., 2010). Mikroshumimi është gjithashtu shumë i rëndësishëm për konservimin *in vitro* të specieve të rralla dhe të rrezikuara bimore (Preil *et al*., 1988; Siddique *et al*., 2003). Mikroshumimi është bërë pjesë e rëndësishme për shumimin tregtar të shumë bimëve (Dirr & Heuser, 1987; George & Sherrington, 1984; Zimmerman *et al.*, 1986; Stimart, 1986; Fiorino & Loreti, 1987) për shkak të avantazheve të tij si një

sistem i shumimit (Debergh, 1987; Pierik, 1997; Razdan, 2003). Në fushën e bimëve dekorative, kultura e indeve ka mundësuar në masë të madhe përhapjen e gjenotipeve superiore dhe përmirësimin e bimëve, duke mundësuar tregtimin e materialit fidanor të shëndetshëm dhe uniform (Winkelmann *et al*., 2006; Nhut *et al*., 2006). Mikroshumimi është përdorur për shumimin e shumë bimëve mjekësore (Razdan, 1993; *Rout et al*., 2000). Suksesi i metodës së mikroshumimit varet nga disa faktorë si gjenotipi, terreni ushqyes, rregullatorët e rritjes dhe eksplanti bimor, të cilët duhet që me kujdes të zgjidhen gjatë kësaj procedure (Pati *et al*., 2005; Nhut *et al*., 2010).

Megjithatë në disa raste, klonimi *in vitro* ka disavantazhe (Pierik, 1988):

- Në disa sisteme shumimi *in vitro*, ku ndërhyn faza e kallusimit, stabiliteti gjenetik është i dobët;
- Bimët e prodhuara *in vitro* mund të shfaqin efekte negative si p.sh. kthim i plotë në fazën juvenile etj.;
- Veçanërisht për speciet drunore, induktimi i rrënjëzimit është shumë i vështirë;
- Transferimi i disa bimëve në tokë është shumë i vështirë;
- Në disa raste, izolimi steril është i vështirë të realizohet.

1.2.2. Metodat e mikroshumimit

Shumimi *in vitro* është më i shpejtë dhe kjo është një nga motivet për të zgjedhur këtë metodë shumimi (Hartman *et al*.,1997; Rout & Das, 1997; Rout *et al*., 2000; Giusti *et al*., 2002; Baskaran & Jayabalan, 2005). Kjo është një metodë laboratorike e përhapur që kryhet në kushte sterile, ku kushtet e mjedisit mund të kontrollohen plotësisht (Wu, 2001). Në mikroshumim përdoren pjesë të ndryshme bimësh ose eksplante si: copa kërcelli me një nyje, bisqe anësore, bishta gjethesh, copa gjethesh, segmente rrënje, sythe, fara etj (George *et al*., 2008) (Fig. 1.2.1.). Kjo metodë siguron prodhimin e bimëve identike me bimët mëma në një numër jashtëzakonisht të madh duke u nisur nga sasi shumë të vogla të materialit fillestar (Giusti *et al.,* 2002).

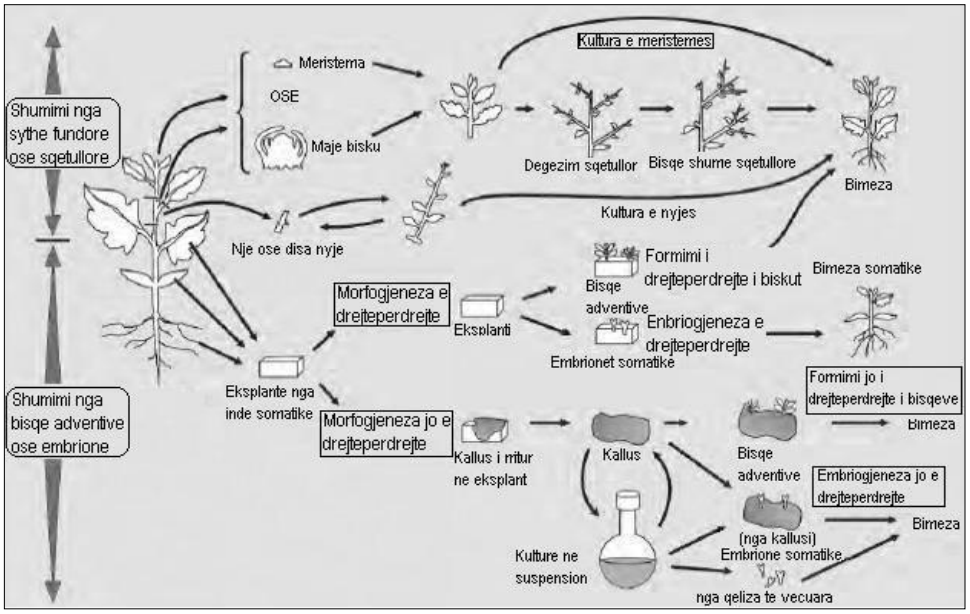


Figura 1.2.1. Metodat kryesore të mikroshumimit. (George *et al*., 2008).

1.2.3. Mikroshumimi me anë të organogjenezës direkte

Organogjeneza direkte ose e organizuar haset në kulturat e meristemave (unipolare) ose në embrionet zigotike (bipolare). Realizohet në eksplantet me origjinë nga sythet apikale ose dhe sqetullore, embrionet, rrënjëzat etj. Në këtë metodë, bisqet adventive mund të zhvillohen direkt nga indet e eksplantit pa kaluar në kallusogjenezë dhe konsiderohet njëra ndër metodat më të besueshme të mikroshumimit. Megjithatë, induksioni i rigjenerimit të drejtpërdrejtë të bisqeve varet nga natyra e organit nga i cili është marrë eksplanti dhe është shumë i varur nga gjenotipi i bimës. Në këtë rast, prekursor kryesor në krijimin e organeve të reja janë qelizat e vetë eksplantit. Përdorimi ekzogjen i rregullatorëve bimorë të rritjes në këtë proces mund të ndikojë, por nuk janë absolutisht të nevojshëm. Në disa specie, bisqet adventive mund të formohen prej pjesëve të indit me prejardhje nga organet e ndryshme (p.sh. gjethet, kërcelli, petalet ose rrënjët), në të tjera specie kjo mund të ndodhë vetëm tek një gamë e kufizuar e indeve siç është rasti te bulbet, embrionet e farave ose indet e bimëve të reja.

Organogjeneza direkte është hasur gjatë kultivimit *in vitro* të meristemave të karafilit dhe patates (Kongjika et al., 1995; Kongjika *et al.*, 2002), kiwit (Kongjika *et al.*, 2002; Kongjika *et al.*, 2003), si dhe në rastin e zhvillimit të embrionit të arrës direkt, pa kaluar në kallusogjenezë (Zekaj *et al.,* 1995; Zekaj *et al.,* 1998; Zekaj, 1999; Kongjika *et al.*, 2002). Këto eksplante dallohen për strukturën e tyre autonome, gjysëm të përcaktuar dhe të qëndrueshme gjenetikisht. Shumë bimë dekorative të tjera dhe disa bimë të kulturave bujqësore mund të shumohen shumë mirë me këtë metodë, p.sh., begonia, *Epiphyllum*, kaktuset, *Gerbera, Hosta* dhe *Lilium* (George & Debergh, 2008). Bimët e krijuara prej bisqeve adventive janë zakonisht tipe të kulturave të vërteta dhe veçanërisht për ato specie që shumohen në rrugë vegjetative edhe në natyrë (Jha & Ghosh, 2005).

Kjo metodë përdoret zakonisht për speciet që me meristema apikale apo sqetullore janë të vështira të stabilizohen *in vitro* apo të dezinfektohen.

Ndër vite janë zhvilluar teknika për izolimin dhe kultivimin *in vitro* të materialit bimor. Me këto metoda shumimi është e mundur rritja edhe e strukturave të organizuara, edhe e atyre të paorganizuara.

Kultura e organeve përdoret si term i përgjithshëm për ato tipe të kulturave në të cilat mund të ruhet në mënyrë të vazhdueshme një formë e organizuar rritjeje. Ajo përfshin izolimin aseptik nga e gjithë bima të këtyre strukturave. Për qëllime të shumimit bimor, tipet kryesore të kulturave të organeve janë:

- *Kultura e meristemës* në të cilën kultivohen vetëm majat e sythit me përmasa shumë të vogla që përfshijnë vetëm zonën e majës distale të kërcellit deri në gjethen më të re primordiale. Një pjesë e tillë është afërsisht 0.075 deri 0.12 mm në diametër dhe 0.2 deri 0.25 mm në gjatësi. Kjo zonë nuk është e lidhur nëpërmjet sistemit enëzor me prokambiumin imatur, gjethen e re primordiale dhe sythin e ri anësor. Mungesa e lidhjes enëzore është përcaktuar si bazë për përdorimin e teknikës së kulturës së meristemës për eliminimin e patogjenëve (Wang & Charles, 1991). Maja e sythit zakonisht rritet për të dhënë një syth të vetëm.
- *Kultura e sytheve* në të cilat kultivohen eksplante më të mëdha, të cilët përmbajnë disa gjethe primordiale. Sythet zakonisht kultivohen në forma të tilla në mënyrë që nga secili syth të fitohet një numër i madh sythesh anësorë.

- *Kultura e nyjeve të sytheve anësorë të ndarë*, ku secili mbahet në një pjesë të vogël të indit të kërcellit. Mund të kultivohen edhe pjesëza kërcelli me dy apo më shumë ndërnyje. Në këtë formë kultivimi, secili syth rritet për të zhvilluar një syth të vetëm.
- *Kulturat e rrënjëve të izoluara*, ku rrënjët kultivohen të shkëputura nga sythet, në këtë formë fitohen tufa rrënjore të mëdha.
- *Kultura e embrioneve* ka si objekt izolimin steril dhe rritjen e embrioneve mature dhe imature *in vitro* për të fituar bimë të fuqishme, si dhe për të ndjekur zhvillimin dhe më tej mbirjen e tyre. Embrioni përbën pikën e fillimit të një brezi të ri sporofitik të bimës. Në bimët kriptogame, embrioni e ka origjinën nga zigota e lokalizuar në gametofitin femëror. Embrionet mund të hiqen lehtë nga indi mëmë në stade të ndryshme të zhvillimit për kultivim *in vitro*. Kultura e embrioneve lejon studimin e faktorëve që rregullojnë rritjen e organeve të bimës, si dhe të aspekteve fiziologjike dhe biokimike të mbirjes. Këto studime janë shumë të vështira të vëzhgohen, kur embrioni gjendet në farë. Në këtë rast zhvillimi i embrioneve ndërlikohet nga ndërhyrja e indeve të tjera (Pierik, 1988; Neuman *et al*., 2009).

1.2.4. Histogjeneza e eksplanteve të kultivuara *in vitro*

Njohja e fazave të ndryshme të morfogjenezës, të organogjenezës së kulturave indore nëpërmjet studimit histologjik të disa prej tyre ka përveç vlerës teorike edhe atë praktike. Njohja e potencialeve qelizore në faza të ndryshme të zhvillimit të eksplantit *in vitro* jep mundësi të rregullohen regjimet dhe lëndët favorizuese për rritjen me sukses të tyre. Po ashtu, njohja e mikrostrukturave në fazat e ndryshme histologjike na lejon të përcaktojmë drejt fazën më optimale për ndikimin në kulturat *in vitro* me faktorë transformues apo mutagjenë, për përftimin e individëve gjenetikisht të manipuluar. Teknikat histologjike përdoren gjerësisht në shumë fusha të kërkimit. Analizat strukturore janë një hap i rëndësishëm në studimin e organizimit dhe të ndryshimeve në trupin e bimës. Metoda të ndryshme histologjike përdoren për të kuptuar sistemet *in vitro*. (Smith *et al.*, 1991; Apter *et al.*, 1993).

Në raste të veçanta, në bimët në kulturë shfaqet një sëmundje fiziologjike e quajtur vitrifikim. Bima merr pamje prej qelqi, me gjethe të mbufatura prej sasisë së lartë të ujit. Këto bimë kanë sasi të ultë të depozitimeve të celulozës dhe linjinës, që shkaktojnë presion të reduktuar të murit qelizor, gjë që çon në hiperhidratim të indeve. Vitrifikimi konstatohet në rastet kur sasia e ujit në terren është e madhe, si në terrenet e lëngëta ose kur përqendrimi i agarit apo i sheqerit në terren është i ulët, si dhe nga përqendrime të larta të joneve amonium apo kalcium (Roberts *et al.*, 1994). Kjo dukuri shoqërohet me nivel të lartë të citokininave dhe stimulohet nga intensiteti i ulët i ndriçimit dhe temperaturat e larta (Pierik, 1988).

Për të përcaktuar se si bimët e mikroshumuara mund të transferohen në kushte normale të rritjes, është i nevojshëm informacioni në lidhje me ndryshimet histologjike gjatë zhvillimit *in vitro* (Donnelly & Tisdall, 1993). Ndryshimet morfologjike dhe histologjike që ndodhin në gjethet e bimëzave mund të jenë kritike gjatë fazave të mikroshumimit. Megjithatë, informacioni në këtë drejtim është e kufizuar (Brutti *et al*,. 2002; Apóstolo *et al.*, 2005).

Sipas literaturës (Picoli *et al*., 2001; Giusti *et al*., 2002), bimët që janë rritur në kushte laboratorike shpesh tregojnë ndryshime anatomike, morfologjike ose fiziologjike në

krahasim me bimët rritur në një mjedis të jashtëm. Këto ndryshime shkaktohen si rezultat i lagështisë relative të lartë, akumulimit të etilenit dhe shkëmbimit të dobët të gazeve e lidhur zakonisht me kushtet brenda enëve të kulturës (Piqueras *et al*., 2002) dhe se bimët e kultivuara *in vitro* karbonin e sigurojnë nëpërmjet terrenit ushqyes (Preece & Sutter, 1991; Hartman *et al*., 1997.). Si rezultat, gjethet që janë formuar në kulturë mund të kenë një kapacitet të reduktuar për fotosintezë (Ziv, 1986; Fino & Donkin, 1987), ose janë tërësisht të paafta për fotosintezë (Preece & Sutter, 1991; Nalawade & Tsay, 2004). Hyrja e dioksidit të karbonit në gjethe për fotosintezën dhe dalja e avujve të ujit, të cilat mund të përdoren për ftohjen avulluese të gjethes mund të lehtësojnë marrjen dhe transportin e kripërave të nevojshme për ushqimin e bimës (Rahman, 2009).Për shkak të aksesit të ushqyesve të ndryshëm në terrenin ushqyes, rrënjët që janë formuar në kushte laboratorike nuk janë funksionale në tokë (Debergh & Read, 1991).

Anomalitë e ndryshme në bimët e mikroshumuara rezultojë në rigjenerimin e dobët dhe uljen e mbijetesës së bimëve (Kevers *et al*., 1984). Epiderma karakterizohet me qeliza me mure të holla me kutikulë të hollë ose pa kutikulë (Picoli *et al*., 2001). Ngjyra e lehtë e gjetheve të bimëve *in vitro* nuk është një shqetësim, pasi ajo mund të shpjegohet nga nivelet më të ulëta të klorofilit në gjethe, për shkak të një nevoje të reduktuar për fotosintezë e bimëve në kulturë (Preece & Sutter, 1991;. Hartmann *et al.*, 1997). Paaftësia e gojëzave për tu mbyllur në përgjigje të humbjeve të ujit nuk është një dukuri e pazakontë në bimët e mikroshumuara (George, 1993; Hartman *et al.*, 1997). Bimëve *in vitro* u mungon struktura karakteristike dyllore dhe në mikroskop sipërfaqja epidermale duket e lëmuar. Ndryshimet janë jo vetëm sasiore, por dhe cilësore. Në bimët *in vitro,* dylli ka sasi më të mëdha komponimesh estere dhe polare dhe sasi shumë të pakta hidrokarburesh me zinxhir të gjatë. Meqenëse komponimet polare janë më pak hidrofobe, kjo ndikon në humbjen e madhe të ujit nga gjethet (Smith *et al.*, 1991; Apter *et al.*, 1993). Mungesën e dyllit në bimët *in vitro*, disa teori ia dedikojnë lagështisë së lartë brenda enës së kulturës, prandaj reduktimi i lagështisë ajrore në këto enë deri në 35% me anë të lëndëve tharëse indukton përftimin e bimëve me struktura dyllore. Gjithashtu ndikon dhe përqendrimi i rritur i agarit dhe i sheqerit në terrenin ushqyes, drita dhe temperatura. Bima e fituar nga kultura *in vitro* ndryshon mjaft nga bima e rritur *in vivo*. Metcalfe & Chalk (1950) i dha një përshkrim të rrallë të anatomisë të përgjithshëm të familjes *Asteraceae*. Diversiteti anatomik është vërejtur zakonisht në strukturën e gjetheve të llojeve që i përkasin familjes *Asteraceae*. Ndër veçoritë që ndryshojnë janë: (a) shpërndarja e gojëzave në sipërfaqet e gjetheve; (b) pozicionimi i qelizave roje në lidhje me qelizat epidermike të zakonshme; (c) prania e llojeve të ndryshme të trikomave, që mbulojnë epidermën;(d) hipoderma e zhvilluar në anën e sipërme të sipërfaqes së gjethes; (e) mezofili homogjen apo heterogjen dhe sistemi i enëve përçuese; (f) parenkima e përbërë nga qeliza të mëdha (Metcalfe & Chalk, 1979) dhe (g) sekrecioni i dyllit mbi sipërfaqen e gjethes (Solereder, 1908).

1.2.5. Mikroshumimi me anë të organogjenezës indirekte

Shumimi me të gjitha metodat indirekte mbart një rrezik në vete për të krijuar bimë që ndryshojnë gjenetikisht nga njëra tjetra dhe nga bima mëmë. Quhet organogjenezë indirekte për shkak se bimët e formuara nuk krijohen nga indi origjinal bimor mëmë, bisqet e formuara gjatë kësaj metode krijohen nga kalluse të paorganizuara apo kultura

qelizore. Me këtë metodë të shumimit *in vitro* kultivohen pjesëza bimore, të cilat më pas formojnë agregate qelizore, që nuk kanë ndonjë strukturë të qartë dhe kanë një numër të kufizuar qelizash të specializuara dhe të diferencuara.

Shpesh kallusi formohet në fundin e prerë të një kërcelli si rezultat i plagosjes në rastin e shumimit vegjetativ të copave të kërcellit. Stimuli që nxit fillimin e kallusit përfshihet në hormonet endogjene si auksinat dhe citokininat. Përveç dëmtimeve mekanike, kallusi prodhohet në indet bimore si rezultat i invazionit nga disa mikroorganizma dhe nga insektet që ushqehen me pjesë bimore. Vetëm duke përdorur teknikat e kultivimit *in vitro*, formimi i kallusit induktohet dhe në inde apo organe bimore që nuk zhvillojnë zakonisht kallus *in vivo* si pasojë e dëmtimit. Izolimi i eksplantit duke e prerë si copë gjetheje me mezofilin dhe dellin kryesor përfaqëson një stres mekanik, ku stimulohet metabolizmi i lëndëve endogjene fenolike, që nga ana e tyre çon në grumbullimin e sasive më të mëdha të lëndëve të paraformuara në indin e padëmtuar ose në shfaqjen e lëndëve të reja, fitoaleksinave me rol të madh në mekanizmat mbrojtëse të indit ndaj infeksioneve. Roli i fitoaleksinave është të formojë barriera fizike si linjina kundër patogjenëve ose inhibitorë të rritjes së mikroorganizmave si kinonet.

Indet bimore që japin shpesh kallus janë kambiumi enëzor, parenkima e rezervës, pericikli i rrënjëve, kotiledonet, mezofili i gjetheve dhe indi proenëzor, që konsiderohen si inde të përbëra nga qeliza në gjendje "të papërcaktuar". Qeliza të tilla janë të afta të kalojnë në drejtime të ndryshme të zhvillimit, në varësi të kushteve ku vendosen qeliza të tilla. Në veçanti, qelizat "e papërcaktuara" mund të shumohen shumë shpejt duke dhënë një kallus. Si pasojë, qelizat bimore "të papërcaktuara" mund të shfaqin totipotencën në sajë të shkallës së lartë të plasticitetit në përgjigjen e tyre ndaj stimulit fiziologjik dhe mjedisor (Mantell *et al.*, 1985). Duhet theksuar se një ind në kulturë, në dallim nga organet nën kulturë, nuk ruan karakteristikat e tij si në indin bimor, por shkon drejt kallusit të çorganizuar. Kultivimi i kallusit është i orientuar në dy rrugë: organogjenezës dhe embriogjenezës somatike (Manjkhola *et al*., 2005) . Në të dy rastet, fillimi i kallusit nënkupton një fazë fillestare të diferencimit nga indet prindërore. Kështu , për të krijuar kalluset, përcaktimi i indeve fillestare të përdorur është një faktor thelbësor për të arritur përgjigjen e dëshiruar (Bandyopadhyay *et al*., 1999). Në induksionin e kallusogjenezës përdoren: embrione zigotikë (Kvaalen *et al*., 2005), hipokotili (Ahn *et al*., 2007), kotiledone (Gómez *et al*., 2006), protoplaste (Cardoza & D' Souza, 2002), anterat (Koleva-Gudeva *et al*., 2007), vezoret dhe ovulat (Sauer & Wilhelm, 2005), ndërnyjet (Chandra & Bhanja, 2002), në kulturën e endospermës (Seghal & Khurana, 1985; Thomas *et al*., 2000; Chaturvedi *et al.*, 2003; Góralski *et al*., 2005), bishtin e gjethes dhe rrënjët (Geneve, 2005) dhe gjethe (Ainsley *et al*., 2000).

Sipas literaturës (Dodds & Roberts, 1995), formimi i kallusit nga eksplanti realizohet në 3 stade zhvillimi: induktimi, ndarja qelizore dhe diferencimi. Gjatë induktimit, metabolizmi stimulohet drejt aktivitetit mitotik. Gjatësia e kësaj faze varet nga gjendja fiziologjike e qelizave te eksplantit, si dhe nga kushtet e kulturës. Më pas, ka një fazë ndarjeje aktive të qelizave dhe këto kalojnë në gjendje meristematike. Faza e tretë përfshin shfaqjen e diferencimit të qelizave dhe shprehjen e disa rrugëve metabolike që çon edhe në formimin e produkteve sekondare (Neumann *et al.,* 2009).

Sipas shumë autorëve (Dodds & Roberts, 1995; Kongjika *et al.*, 2002, 2010; Neumann *et al.,* 2009), diferencimi ndodh në formën e elementeve trakeide, elementeve të floemës, qelizave të ndryshme dhe pjesë të vogla të qelizave në ndarje formojnë nyje

enëzore ose meristemoide që bëhen qendra për formimin e majave të kërcellit, fillesave të rrënjës ose embrioneve fillestare.

1.2.6. Mikroshumimi me anë të embriogjenezës somatike

Me anë të kulturave aseptike të qelizave mund të arrihet kultivimi i embrioneve artificiale duke u nisur nga qeliza vegjetative. Embrionet somatike ose embrioidet prodhohen *in vitro* nga tre burime qelizash diploide në kulturë:

- Qeliza vegjetative të bimëve mature;
- Inde riprodhuese përveç zigotës;
- Hipokotile dhe kotiledone të embrioneve dhe të filizave të reja pa ndërhyrjen e zhvillimit të kallusit.

Çdo zhvillim i embrioideve kalon në disa stade të njëpasnjëshme të formimit të embrioneve: stadi globular, në formë zemre dhe në formë torpedoje.
Sipas Sharp, embriogjeneza fillon në dy mënyra të ndryshme:

- sipas tipit të parë, embriogjeneza ndodh direkt në mungesë të kallusimit nga "qeliza paraembrionale të përcaktuara" që janë të programuara për diferencim embrional.
- tipi i dytë i zhvillimit kërkon fillimisht formim të kallusit dhe embrionet lindin nga "qeliza embriogjenike të induktuara" brenda kallusit. Embrioidet fillojnë në kallus nga grupe sipërfaqësore qelizash të shoqëruara nga qeliza me vakuola të mëdha që nuk marrin pjesë në embriogjenezë. Qelizat që formojnë embrioidin karakterizohen nga përmbajtje e dendur citoplazmike, kokrriza të mëdha niseshteje dhe bërthama relativisht të mëdha. Këto qeliza embrionike kanë përqëndrim të lartë të proteinave dhe te ARN. Ato shfaqin aktivitet të lartë të dehidrogjenazave.

1.2.7. Llojet e kulturave indore

Kultura indore zakonisht përdoret si term i përgjithshëm që i referohet të gjitha kulturave të paorganizuara (Hartman & Kester, 1982). Në praktikë njihen më shumë këto kultura me rritje të paorganizuar (George *et al*., 2008):

- *Kultura e kallusit* është rritja dhe ruajtja e sasive të mëdha të qelizave të paorganizuara që rrjedhin nga një rritje e pakoordinuar dhe e paorganizuar e pjesëzave të vogla të organeve bimore. Kjo formë e kulturës realizohet me eksplante të ndryshme bimore si bishta dhe copa gjethesh, ndërnyje (Çaushi *et al.*, 1998) dhe duke manipuluar me përbërësit e terrenit, e sidomos me raportin auksinë/citokininë. Në veçanti, qelizat "e papërcaktuara" mund të shumohen shumë shpejt duke dhënë një kallus. Nga kjo formë e parregullt e masës kallusore më vonë formohen organe *de* novo si rrënjë, sythe ose embrione (Kongjika *et al*., 2002, 2010; Neuman *et al*., 2009).
- *Suspensionet qelizore* që konsistojnë në rritjen e popullatave qelizore të veçuara apo të grupuara në grumbuj të vegjë, të cilat kultivohen në mjedis të lëngët me lëvizje dhe ajrosje të vazhdueshme. Termi "shkrifërim" përdoret për veçimin e qelizave që ndiqet nga ndarja qelizore (Endress, 1994). Shkalla e veçimit qelizor modifikohet nga ndryshimi i përbërjes së terrenit ushqyes. Duke rritur raportin auksinë/citokininë prodhohet shpesh një kulturë më e shkrifët. Kultura në suspension përdoret në veçanti për prodhimin e metabolitëve sekondarë.

- *Kultura e protoplasteve* konsiston në kultivimin e qelizave bimore pa mur qelizor, sepse muri qelizor i jashtëm mund të largohet me metoda mekanike ose enzimatike. Protoplastet e izoluara, të pajisura vetëm me plazmalemë janë shumë të favorshme për manipulime të ndryshme (Dodds & Roberts, 1995; Pierik, 1988; Neuman *et al*., 2009).
- *Kultura e anterave* në të cilën kultivohet e gjithë antera së bashku me mikrosporet e pjalmit. Objektivi është formimi i bimëve haploide me anë të formimit të embrioneve somatikë direkt nga pjalmi, ose ndonjëherë me anë të organogjenezës indirekte. Haploidet kanë përparësi të veçantë në sigurimin e shpejtë të homozigotisë dhe është rruga e vetme e fitimit të saj për disa specie (Reinert & Bajaj, 1977; Mogensen, 1982; Dunwell, 1985; Neuman *et al*., 2009).

1.2.8. Karakteristikat citologjike të zhvillimit të kallusit

Ndarja e induktuar në fragmentet e indeve shoqërohet me ndryshime të konsideruara anatomike (Gauthreet, 1966). Ndryshimi i parë më i madh është diferencimi në çdo dëmtim të kambiumit, i cili është formuar dhe mesatarisht madhësia e qelizave është si një pikë. Disa qeliza të vogla që rezultojnë nga kjo fazë aktive e ndarjes kanë vakuola të vogla dhe duken pothuaj të ndryshme nga qelizat shumë të vakualizuara, nga të cilat e kanë prejardhjen. Struktura dhe ristrukturimi i organelave na sugjeron në se këto qeliza janë metabolikisht aktive dhe ndryshimet mund të vëzhgohen tek mitokondria dhe plastet. Kjo fazë e diferencimit ndiqet nga një fazë ridiferencimi, në të cilën zhvillimi i ri prindëror është ndërthurur me mbivendosjen e një ndarje aktive në plagën e kambiumit dhe eventualisht me një shërim të tij. Diferencimi mund të ketë disa forma: mund të duken si kambium vaskular ose nodula meristematike. Nodulet meristematike janë tipari më i përgjithshëm i zhvillimit të kallusit dhe ata bëhen qendra të rritjes, të cilat nuk janë të diferencuara, por më tej prodhojnë qeliza parenkimatike të shpërndara në periferi të tyre. Këto forma qelizore dhe indi universal pranohen si kallus (Street, 1973). Jo të gjitha produktet e ndarjes të kallusit zhvillohen në këtë mënyrë, disa mund të diferencohen brenda elementëve të floemës ose bëhen gjerësisht të linjifikuara dhe formojnë trakeidet. Të tjera qeliza meristematike shumë të vogla të qendrave të rritjes mbeten të padiferencuara dhe ngjajnë me meristemat apikale. Këto struktura nodulare më tutje mund të zhvillojnë rrënjët ose sythet (filizat).

Origjina e kalluseve është e ndryshme. Kështu, kallusi ndër të tjera mund të zhvillohet nga qelizat e kambiumit dhe të floemës tek eksplantet e segmenteve të kërcellit të kiwit (Gui Yao-lin, 1982). Elementët e ksilemës primare marrin pjesë në formimin e kallusit. Fryrjet e para e kanë origjinën nga qelizat sipërfaqësore dhe terminale të kallusit.

Strukturat e kallusit që formohen janë katër tipesh:

1. *Kallus amorf*. Ky lloj kallusi është me qeliza të padiferencuara dhe ka ngjyrë të bardhë. Tek kallusi i bardhë, qelizat konsistojnë në tipin e qelizave parenkimatike, izodiametrike sferike dhe me mure të trashë dhe prozenkimatike të gjata me bërthama të mëdha. Janë vëzhguar dhe qeliza të veçanta tetraploide.
2. *Kallus i shkrifët*. Në këtë lloj kallusi, qelizat paraqiten më të organizuara dhe kallusi ka ngjyrë bezhë.
3. *Kallus embriogjenik*. Në këtë lloj kallusi, shfaqen struktura embrioide dhe më pas nga këto formohen embrione somatike. Karakteristike është ngjyra jeshile, e cila përcaktohet nga kloroplastet që zhvillohen në qelizat parenkimatike të kallusit. Qelizat

parenkimatike janë të mëdha dhe me bërthamë relativisht të mëdha. Qelizat e indit jeshil përmbajnë një sasi të konsiderueshme sasie niseshteje, i lokalizuar rreth bërthamës.

4. *Kallusi kompakt*. Ky lloj kallusi paraqitet me qeliza të ngjeshura dhe në ngjyrë të kuqërremtë (i murrmë). Ky lloj kallusi është i paaftë për të zhvilluar embrionet somatike. Ka të dhëna nga disa studime që edhe këto lloj kalluse, në kushte specifike mund të zhvillojnë embrione somatike. Deri tani nuk është vëzhguar kapaciteti morfogjenik i tij (Marinescu *et al.,* 2001).

1.2.9. Realizimi i kulturës *in vitro* tek speciet e ndryshme dhe në speciet e familjes *Asteraceae*

Materiali bimor që përdoret në kulturë *in vitro* duhet të jetë i shëndetshëm dhe aktiv në rritje. Eksplantet që përdoren në kultura janë të llojeve të ndryshme, prandaj duhet pasur parasysh se mund të jenë edhe burim i infeksionit. Paraprakisht, nëse materiali bimor që përdoret në kulturë është dezinfektuar apo sterilizuar, atëherë edhe inokulimi i tyre duhet kryer në kushte aseptike. Si material fillestar bimor për kulturën *in vitro* të specieve të familjes *Asteraceae* mund të përdoren pjesë të ndryshme të organeve bimore. Për të krijuar kulturën e *Salvia officinalis* L. (sherbela) janë përdorur si eksplante fillestare sythe të majës dhe anësore (Avato *et al.,* 2005). Në *Dianthus caryophyllus* L. u përdorën si eksplante fillestare copat e gjetheve (Jain *et al*., 2001). Burime të tjera eksplantesh janë përdorur me sukses për të krijuar kulturat e bimëve të ndryshme si meristema dhe embrioneve zigotike (Rout *et al*., 2000). Për të zbuluar infeksionet e brendshme është e vështirë, pasi ato shfaqen pas një periudhe kohe në kulturë (Rout *et al*., 2000). Zhvillimi i infeksioneve endogjene janë shkaktuar shpesh kur elsplantet janë transferuar në një terren ushqyes (Debergh & Lexoni, 1991) ose bëhet i dukshëm, kur vendi i infeksionit është në kontakt me terrenin (Pierik, 1987) gjatë subkulturës. Në shumicën e rasteve, materialet bimore janë shpëlarë në ujë të rrjedhshëm më pas sterilizohen me 70% etanol në kombinim me 0.1% biklorur mërkuri ($HgCl_2$) ose hipokloriti natriumi (NaOCl) (2% - 15%). Eksplantet shplahen disa herë me ujë të distiluar dhe steril. Ndër sterilizantët e përdorur, më shpesh janë hipokloriti i natriumit (NaOCl), hipokloriti i kalciumit ($Ca(OCl)_2$), etanoli (C_2H_4OH) dhe bikloruri i mërkurit ($HgCl_2$), respektivisht në përqendrime të 5-10% (hipokloritet), 50-95% (alkoolet) dhe 0.01-0.1% (kloruri i mërkurit) (Pierik, 1987; George, 1993; Rout *et al*., 2000). Bikloruri i mërkurit ($HgCl_2$) është më i përdorshmi në dezinfektimin e materialeve bimore të disa llojeve të familjes *Asteraceae* si p sh në eksplantet e gjetheve të *Dianthus caryophylus* (Jain *et al*., 2001) dhe eksplantet e nyjeve dhe kotiledoneve të *Eclipta alba* (Baskaran & Jayabalan, 2005).

- **Përbërësit e terreneve ushqyese**

Suksesi i kulture *in vitro* varet mjaft nga përbërja kimike e terrenit të kulturës. Për rritjen optimale të bimëve kërkohet prania në terren e sasive relativisht të mëdha të makroelementeve (N_2, P, K, Ca, Mg dhe S), e sasive të vogla të mikroelementeve (Mn, Zn, B, Cu, Co, J dhe Mo) dhe furnizimit me hekur (përdoret në formë kelati Fe- EDTA). Në terren duhet edhe prania e karbohidrateve, aminoacideve, vitaminave dhe veçanërisht me rregullatorë bimorë të rritjes. Karbohidratet përdoren si burim energjie, si rregullatorë osmotikë dhe veçanërisht si burim karboni. Në përgjithësi, si karbohidrat përdoret

sakaroza. Kërkesa për karbohidrate në terrenet e kulturës përmbushet zakonisht me përfshirjen e 2-3% sakarozë dhe më rrallë, nga glukoza (Rout *et al*., 2000). Përqendrimet e 2% ose 3% sakarozë përdoren edhe për mikroshumimin e bimëve mjekësore të tilla si *Salvia officinalis* (Avato *et al*., 2005; Kongjika *et al.*, 2008), *Scrophularia yoshimurae* (Lai *et al*., 2005), *Origanum vulgare* (Strycharz & Shetty, 2002; Kongjika *et al.*, 2008) dhe anëtarët e tjerë të familjes *Asteraceae* si *Piqueria trinervia* (Saad *et al.,* 2000) dhe *Dianthus caryophyllus* (Piqueras *et al*., 2002; Kongjika *et al.*, 2002). Prej aminoacideve që më shpesh shtohen në terrene ushqyese janë: arginina, asparagina, glutamina, prolina, etj. (George *et al*., 2008). Vitaminat kanë funksione katalike në sistemet enzimatike. Vitaminat e grupit B favorizojnë zhvillimin e bimëve. Mio-inozitoli nuk është vitaminë e vërtetë, por një sheqer-alkool që shtohet në vitaminat si faktor rritjeje. Ai prodhon efekt stimulues në morfogjenezë. Vitaminat e tjera që përdoren në kulturë *in vitro* janë: acidi pantoteinik, acidi askorbik (vitamina C), vitamina D, E, acidi folik, riboflavina, etj. (George *et al*., 2008). Fitohormonet dhe rregullatorët e rritjes përdoren në sasi tepër të vogla, të rendit 0.01-10 mg l^{-1} (pasi në sasi të larta mund të jenë toksike) dhe përcaktojnë në masë të madhe dhe vendimtare rritjen gjatë embriogjenezës apo morfogjenezës (Kongjika *et al.*, 2002; Tech & Seiler, 2004; Satyavathi *et al*., 2004; Cutler *et al.,* 2009). Por përdorimi i tyre në terrenin ushqyes varet kryesisht nga tipi i eksplantit, nga speciet bimore dhe nga fitohormonet endogjene (Taiz & Zeiger, 2006). Kryesisht përdoren 3 kategori fitohormonesh:

- *Auksinat*. Në kulturat indore, auksinat përdoren për stimulimin e rritjes të majave të kërcejve, për fillimin dhe zgjatjen e rrënjëve, induktimin e embriogjenezës somatike dhe fillimin e formimit të kallusit. Si shtesë, ato përdoren për stimulimin e formimit të rrënjëve adventive dhe frenojnë formimin e sytheve. Auksinat shkaktojnë kallusime të indeve dhe frenim të formimit të rrënjëve në përqendrime të larta. Ndër auksinat natyrale, në kulturë përdoret AIA (acidi indolacetik) në përqendrime 1-10 mg l^{-1}. Ndër auksinat sintetike në kulturë përdoren të dy izomeret α dhe β të acidit naftalenacetik (ANA), acidi 3-indol butirik (AIB) dhe acidi diklor fenoksiacetik (2,4-D). AIB është agjent kryesor i rrënjëzimit, kurse 2,4-D është auksina më efektive për proliferimin e kallusit.
- *Citokininat*. Në kulturën indore, përdorimi ekzogjen i citokininave sintetike ndikon në ndarjen qelizore, morfogjenezën, shtimin e sytheve anësore dhe adventive. Nga citokininat, më e përdorshme në terrene është kinetina (6-furfurilaminopurina), BAP ose BA (6-benzilaminopurina ose 6-benziladenina) dhe zeatina. Dy të parat janë sintetike, kurse zeatina është natyrale.
- *Giberelinat*. Në kulturë *in vitro,* më i përdorshëm është GA_3 (acidi giberelik). Në përgjithësi, giberelinat induktojnë zgjatje të ndërnyjeve dhe rritje të meristemave ose të sytheve. Ato gjithashtu ndërpresin fjetjen e thellë të embrioneve ose të farave të izoluara.

Duhet theksuar se raporti auksinë/citokininë është instrument në rregullimin e ndarjes qelizore, në zgjatjen, diferencimin e qelizave dhe në formimin e organeve. Në përgjithësi, përqëndrimi i ulët i auksinave dhe ai i lartë i citokininave stimulojnë rritjen qelizore. Citokininat stimulojnë zgjatjen e shumë llojeve të bimëve mjekësore (Jha,1989; Sharma *et al*., 1993; Chen *et al*., 1995; Saxena *et al*., 1998; Rout *et al*., 2000; Kongjika *et al.*, 2008). Një kombinim i auksinës dhe citokininës është përdorur zakonisht për të nxitur formimin e bisqeve në kulturat *in vitro* (George, 1996; Hartman *et al*., 1997; Puente & Marh, 1997; Dhingra *et al*., 2000; Giusti *et al*., 2002; Lai *et al*., 2005; Rout, 2005). Këta rregullatorë të rritjes janë përdorur zakonisht në mikroshumimin e bimëve mjekësore

(Rout *et al*., 2000; Rout, 2005;. Avato *et al.*, 2005; Baskaran & Jayabalan, 2005; Thomas & Maseena, 2006, Kongjika *et al.*, 2008) dhe bimë të tjera të familjes *Asteraceae* (Ueno *et al*., 1998). Alhady (2011) raportoi se në mikroshumimin e *Stevia rebaudiana,* nivelet e rregullatorëve të rritjes së bimëve dhe në veçanti, citokininat kanë një ndikim të rëndësishëm në rritjen e bisqeve.

Në disa raste, në terrene nuk përdoren rregullatorë të rritjes p.sh. në bankat gjenetike *in vitro*, kur materiali vegjetativ ruhet në kushte të rritjes minimale për disa muaj deri në një vit (Kongjika *et al.*, 1998; Kongjika *et al.*, 2002) ose gjatë subkulturave, kur bimëzat e zhvilluara në kushte *in vitro* kanë thithur në fazat e para sasi të mjaftueshme të rregullatorëve të rritjes (Kongjika *et al.*, 1995).

Në terrenin ushqyes përdoret uji, i cili duhet të jetë shumë i pastër, gjë që arrihet me anë të distilimit, dejonizimit, ultrafiltrimit dhe sterilizimit. Këto procedura eliminojnë ndotësit si lëndët inorganike, organike, bakteret etj.

Zgjedhja e një terreni të veçantë varet nga specia bimore, indi apo organi në kulturë dhe nga qëllimi i kulturës. Suksesi varet nga njohja e nevojave ushqyese të indeve. Si terren universal për fillimin e kallusit nga indet e dikotiledoneve konsiderohet terreni bazal Murashige dhe Skoog (MS) (Murashige & Skoog, 1962). Tretesira inorganike Murashige dhe Skoog (MS) është shumë e pasur me kripëra. Karakteristike e tij është përqendrimi relativisht i lartë i nitrateve, potasiumit dhe amoniumit. Shpesh kjo tretësirë hollohet për gjysmë për të evituar disa efekte frenuese në rritjen e indeve. Terreni MS është terreni më i përdorur zakonisht në kultivimin e bimëve të ndryshme mjekësore (Rout *et al*., 2000, Kongjika *et al.*, 2002). Ai është përdorur gjithashtu për të kultivuar bimët mjekësore *Piqueria trinervia* (Saad *et al*., 2000) dhe *Scrophularia yoshimurae* (Lai *et al*., 2005). Nga të dhënat e literaturës, disa autorë kanë raportuar për përdorimin e terreni MS edhe në anëtarë të tjerë të familjes *Asteraceae*. *Dianthus caryophyllus* (Jain *et al*., 2001) dhe *Hypochaeris radicata* (Jamuna & Paulsamy, 2014) kanë dhënë rezultate të kënaqshme në këtë terren. Mikroshumimi i *Stevia rebaudiana* (Das *et al*., 2011) u realizua në terrenin MS të plotësuar me 2 mg l^{-1} Kinetinë.

Përdorimi i elementëve minerale dhe rregullatorët bimorë të rritjes në terrenin ushqyes varet kryesisht nga tipi i eksplantit, nga speciet bimore, nga fitohormonet endogjene, por edhe nga gjendja fiziologjike e materialit fillestar (Taiz & Zeiger, 2010). Formimi i kallusit gjatë kultivimit *in vitro* në familjen *Asteraceae* dhe disa bimë mjekësore është arritur duke përfshirë një kombinim të auksinës dhe citokininës në terrenin e rritjes. Kallusi ka qenë i induktuar në *Dianthus caryophyllus* L. (Jain *et al*., 2001), *Cardiospermum halicacabum* (Thomas & Maseena, 1996) dhe *Artemisia annua* (Dhingra *et al*., 2000) në terrenin MS me 2,4-D dhe BAP në përqendrime që variojnë midis 0,2-5 mg l^{-1}. Gjithashtu, një kombinim i 1 mg l^{-1} BAP dhe 0.5-1 mg l^{-1} ANA në MS indukton kallusin në *Piqueria trinervia*, një bimë mjekësore nga familja *Asteraceae* (Saad *et al*., 2000) dhe në *Carthamus tinctorius* L. (Orlikowska & Deyer, 1993). Baskaran & Jayabalan (2005) raportuan se formimi i kallusit ka ndodhur në *Eclipta alba* me të gjitha llojet e auksinës në MS dhe duke ulur përqendrimin e kripës. Rritja e përqendrimit të BA ose kinetinës në terrenin MS ka rezultuar në formimin e kallusit në *Clitoria ternatea* (Rout, 2005). Orlova *et al*., (2000) ka përdorur terrenin MS me kombinim 1 mg l^{-1} 2, 4-D dhe 1 mg l^{-1} (BA) për të induktuar kallusin në specien *Rhaponticum carthamoides*. Organogjeneza indirekte në copat e gjetheve dhe ndërnyje të *Stevia rebaudiana* rezultoi gjatë kultivimit të eksplanteve në terren MS me shtesë të 2,4-D (Uddin *et al*., 2006). Për

kultivimin *in vitro* të kësaj specie u përdor terreni ushqyese MS me kombinim rregullatorësh të rritjes BAP, ANA dhe 2,4-D (Gupta *et al.,* 2010) dhe si eksplante u përdorën copat e gjetheve, ndërnyje dhe rrënjë. Induktimi i kallusit tek *Echinacea purpurea* rezultoi gjatë kultivimit të eksplanteve të bishtave të gjethes (Choffe *et al*., 2000) dhe copave të gjetheve (Koroch *et al*., 2001) në terrenin MS me BAP dhe ANA. Për të induktuar kallusogjenezën gjatë kultivimit të copave të gjetheve të species *Leuzea carthamoides* (Zand *et al*., 2014) përdorën 12 kombinime të ndryshme të BA, 2,4-D në terrenin MS. Në subkulturë, eksplantet u transferuan në terrenin MS të plotësuar me AIA 0.5 mg l^{-1} dhe 0.5 mg l^{-1} BA.

- **Kushtet në dhomën vegjetative**

Kulturat kalohen në dhomën e kulturës me kushte të kontrolluara (Fig. 1.2.2), me rëndësi për mbarëvajtjen e kulturës *in vitro* (Kongjika *et al.*, 2002).

- *Drita***,** është faktori më i ndërlikuar ndikues, si për sa i përket gjatësisë së ditës, ashtu dhe për sasinë e ndriçimit dhe spektrin e dritës. Fotoperioda 16-18 orë ndriçim/24 orë është më e përdorshme. Në disa raste, kulturat mbahen në ndriçim të vazhdueshëm. Ndriçimi 12-20 W/m^2 ose 2500-4000 luks është optimal, kurse ndriçimi më i lartë 30-70 W/m^2 shkakton dëmtime në bimë. Më shpesh përdoren tuba fluoreshente (tipi i bardhë dhe i ftohtë) me raport të lartë drite portokalli/e kuqe. Këto eliminojnë mjaft rrezet ultravjollcë që kanë ndikim frenues në formimin e kërcejve adventivë. Fotoperioda varion mes 12 orë dhe 16 orë në ditë (Puente & Marh, 1997; Rout *et al.*, 2000; Baskaran & Jayabalan, 2005; Lai *et al*., 2005).
- *Temperatura*, mbahet konstante në kufijtë 20°-25°C. Në disa raste kërkohet temperaturë më e ulët (18°C) për speciet me bulbe, ose më e lartë (28°-29°C) për speciet tropikale. Temperatura optimale për rritjen *in vitro* është 3°- 4°C më e lartë se në kushte *in vivo*. Temperatura shumë të ultë përdoren për të ndërprerë rritjen në bankat gjenetike *in vitro* të ngritura me anë të metodave frigoriferike dhe krioskopike. Shumica e bimëve mjekësore të kultivuara *in vitro* (Rout *et al.,* 2000) inkubohen në rreth 25ºC dhe speciet tropikale në 27ºC - 30ºC.
- *Lagështia ajrore.* Përderisa brenda enëve të mbyllura, lagështia ajrore është shumë e lartë, ky faktor nuk ka rëndësi. Disa autorë pohojnë se prodhimi i sytheve lulore është më i mirë në terren të ngurtë dhe i dobët në terren të lëngët, gjë që lidhet me uljen e lagështisë ajrore.
- *Sasia e oksigjenit*. Ajrimi i mirë është faktor me rëndësi për rritjen e qelizave dhe indeve. Furnizimi i enëve me oksigjen stimulohet nga përdorimi i terrenit të lëngët. Veçanërisht për eksplantet e specieve drunore, formimi i rrënjëve adventive stimulohet nga furnizimi me oksigjen.
- *Sasia e* CO_2. Megjithëse CO_2 në parim mund të përdoret si burim karboni, sakaroza e zëvendëson shumë mirë atë. Shtimi i CO_2 jep pak efekt, përderisa përqendrimi i CO_2 në enët është shumë i lartë.

Figura 1.2.2. Pamje e dhomës vegjetative në laboratorin Departamentit të Bioteknologjisë.

- **Të dhëna për kultivimin *in vitro* të species *Aster albanicus* Degen**

Shtimi natyral tek *Aster albanicus* Degen bëhet me fara ose me metoda të shumimit vegjetativ, me anë të kërcellit nëntokësorë të tipit rizom. Fuqia e mbirjes së farave arrin deri në 60-65%. Koeficienti i shumimit me kërcej nëntokësorë arrin 1: 3.4. Këta tregues janë relativisht optimalë për shtimin normal të një specie **(**Zekaj *et al.*, 2007).

Gjatë kultivimit *in vitro* të eksplanteve vegjetative (meristema dhe sythe) të *Aster albanicus* Degen *subsp. paparistoi* Qosja, popullata e Divjakës ka shfaqur reagim shumë pozitiv në organogjenezën direkte (Zekaj *et al.*, 2003; Kongjika *et al.*, 2004a). Kultivimi i eksplanteve të gjetheve me organogjenezë indirekte (Kongjika *et al.*, 2004b) jep gjithashtu të dhëna interesante të zhvillimit të këtyre eksplanteve.

1.2.10. Konservimi *in vitro* i bimëve

Teknikat e kulturës *in vitro* janë përdorur kryesisht për prodhimin e gjenotipeve te zgjedhur, duke lejuar prodhimin e mijëra bimëve identike, gjate një periudhë të shkurtër kohe, duke filluar nga vetëm një eksplant (Hartmann *et al.,*2002). Ky lloj i kulturës mund përdoret për ruajtjen e gjermoplazmës me interes ekologjik (Sarasan *et al*., 2006).

Metodat *in situ* dhe *ex situ* të konservimit po përdoren gjerësisht në ditët e sotme për të ruajtur popullatat e ndryshme bimore në rrezik zhdukjeje (Rao, 2004). Ruajtja e gjermoplazmës është një aktivitet i domosdoshëm për gjenetistët për të mos humbur materialet gjenetike të vlefshme, si mbajtëse të karakteristikave interesante dhe të përdorshme për përmirësimin e kultivarëve tregtarë. Kopshti më i madh botanik në botë - Royal Botanic Gardens, Kew, në Angli - posedon një koleksion të gjerë në kushte *in vitro*, e cila përfshin shumë specie bimore të marra nga e gjithë bota dhe konsiderohen nën kërcënimin e zhdukjes, ku shpërndarja e protokolleve në *in vitro* bëhet e domosdoshme për të promovuar zhvillimin e vazhdueshëm dhe të aplikimit të teknikave të ruajtjes (Sarasan *et al*., 2006). Nevoja e ruajtjes së resurseve gjenetike ka bërë që në 30 vende të botës të ngrihen banka të fuqishme ndërkombëtare të materialeve gjenetike,

zakonisht në formë të farave që zënë pak hapësirë dhe që ruhen për disa vjet. Krijimi i kulturave *in vitro* duke filluar nga fara kontribuon në ruajtjen e qëndrueshmërinë gjenetike të një specie të caktuar, një procedurë e domosdoshme në programet e ruajtjes (Mercier & Nievola, 2003). Në këtë mënyrë mund të ruhet materiali bimor i shumuar në rrugë seksuale. Për qëllimin tonë final, ruajtjen e gjermoplazmës, kërkohet që pasardhësit e prodhuar *in vitro* të jenë "identike" me bimën mëmë të ekosistemit natyror. Në përgjithësi, sa më e organizuar të jetë struktura e eksplantit, aq më i vogël është shansi i mutacioneve. Stabiliteti gjenetik ruhet kur bima formohet nga meristema, maja e kërcellit ose sythi anësor, embrioni sipas organogjenezës direkte. Në rastin e organogjenezës indirekte, kur kemi të bëjmë me kulturë kallusi, shtohet shansi i mutacioneve. Ndërhyrja eventuale e variacioneve somaklonale duhet detektuar për të eliminuar raste të tilla, kur do të konsiderohet si objektiv final ruajtja e gjermoplazmës.

Lidhjet mes intensitetit të rritjes dhe temperaturës dhe me përbërjen e terrenit ushqyes janë raportuar fillimisht nga Galzy me 1969 që ruajti bisqet e *Vitis rupestris* për 10 muaj në 9° C, kurse më 1973 u grumbulluan shumë raporte për përdorimin e temperaturave të ulëta dhe të retardantëve për ruajtjen e specieve të gjinisë *Solanum* dhe të rrënjëve të bimëve tropikale dhe të atyre me zhardhokë.

Mundësia e rigjenerimit të bimëve duke u nisur nga qelizat, indet apo organet e kultivuara *in vitro* ka bërë që të përdoren këto metoda për ruajtjen e materialit gjenetik me disa avantazhe (Pierik, 1988; Dodds & Roberts, 1995; Bajaj, 1995; George, 1996; Kongjika et al., 2002; Day *et al.,* 2007; Reed, 2008):

- Konservohen bimë sterile që nuk mund të riprodhohen me farë, ose kur farat kanë vështirësi për mbirje ose kur potenciali i tyre humbet gjatë ruajtjes normale.
- Vetëm një numër i vogël bimësh tipike të çdo kultivari, varieteti etj. nevojitet të ruhen si burim i materialit të eksplanteve të freskëta për rifillimin e kulturave në çdo kohë të vitit, d m th nuk humbet potenciali regjenerues.
- Ruhet qëndrueshmëria gjenetike, veçanërisht kur përdoren kulturat e meristemave, majave të kërcejve dhe embrioneve.
- Ruhen specie bimore të kërcënuara për zhdukje p.sh. bimë endemike dhe të rralla me vlera për ruajtjen e biodiversitetit.
- Nëse fitohet një kulturë e painfektuar, shpesh herë me shumë vështirësi, mënyra e vetme e sigurt që bimët të ruhen të painfektuara është konservimi *in vitro*.

Disa teknika moderne të konservimit janë zhvilluar për ruajtjen *ex situ* të gjermoplazmës së specieve bimore. Duke marrë parasysh kohëzgjatjen e ruajtjes, janë dhënë dy kategori kryesore të konservimit (Engelmann & Engels, 2002):

1. **Konservimi afatshkurtër ose i mesëm** (nga disa muaj në disa vjet), ku gjermoplazma mund të ruhet në kushte sterile të kulturës *in vitro* me metodat e rritjes minimale;
2. **Konservimi afatgjatë,** ku materialet bimore ruhen në azot të lëngët për periudha afatgjata (kriokonservimi).

1. Konservimi afatshkurtër ose i mesëm -Metodat e rritjes minimale

Teknika e ruajtjes së materialit gjenetik do të bazohet në zvogëlimin e aktivitetit të metabolizmit të qelizave, indeve ose organeve në mënyrë që të shmanget rritja, por të ruhet mundësia e regjenerimit. Kultivimi i materialit vegjetativ *in vitro* kërkon kushte

optimale të lëndëve ushqyese, vitaminave, fitohormoneve dhe faktorëve të mjedisit. Qëllimi kryesor i ruajtjes së gjermoplazmës është të kufizojë numrin e subkulturave dhe të ruajë diversitetin gjenetik të një specieje në kushte sterile pa dëmtuar stabilitetin bimor (Moges *et al*., 2003). Rritja e ngadaltë është përdorur me sukses për speciet bimore tropikale, bimët mjekësore, pemët pyjore, llojet e rrezikuara për zhdukje (Lambardi *et al*.,2012; Keshavachandran *et al*., 2005; Kongjika *et al*., 2008). Rritja e ngadaltë e bimëve ose frenimi plotësisht i rritjes së bimëve zakonisht arrihet duke modifikuar faktorë të ndryshëm si p sh duke zvogëluar temperaturën dhe duke modifikuar terrenet ushqyese (Charrier *et al*., 1991;. Withers, 1991; Engelmann,1991; Malaurie *et al*., 1998; Holobiuc *et al*., 2007). Kulturat *in vitro* do të ruhen sipas 2 metodave:

- **Zvogëlimi i temperaturës dhe intensitetit të ndriçimit**

Temperaturat e ulëta ngadalësojnë rritjen e bimëve duke ulur kështu numrin e subkulturave (Islam *et al*., 2003). Nga ana tjetër, zvogëlimi i numrit të subkulturave ndikon pozitivisht në ruajtjen e stabilitetit gjenetik të materialit bimor duke mos lejuar shfaqjen e mutacioneve të mundshme, që konsiderohet si kriter kryesor ne ruajtjen e gjermoplazmës së specieve. Ruajtja e gjermoplazmës të llojeve bimore për një periudhë të gjatë kohore mund të bëhet me anë të reduktimit të rritjes pa ndikuar në zhvillim nga përdorimi i temperaturave të ulëta konstante (Jouve *et al*., 2000; Islami *et al*., 2005; Amoo *et al*., 2009). Në bazë të këtij parimi, materiali gjenetik mund të ruhet në temperaturë shpesh pak më të larta se pika e ngrirjes së ujit. Temperatura dhe zgjatja e ruajtjes në të ftohtë do të varet nga specia dhe tipi i materialit bimor. Si rregull i përgjithshëm, bimët që rezistojnë (që rriten) në temperatura të ulëta, mund të konservohen në temperatura 0-5^{0}C, bimët e zonave të ngrohta ruhen në 0°-6°C, bimët tropikale apo subtropikale duhet të ruhen në temperatura 15^0-20^{0}C (Ng & Ng, 1991; Keller *et al*., 2006). Sipas Pierik (1987), përdorimi i një temperaturë prej 15°C për bimët tropikale është i mjaftueshëm për të prodhuar një rënie në rritje pa shkaktuar dëme të bimëve. Rezultatet e vërejtur për bimët e species *Vriesea inflate* treguan se rritja u reduktua në temperaturën 15°C (Pedroso *et al*., 2010).

Veç të tjerash, kjo metodë ruajtjeje rezulton me kosto të ulët dhe gjen një përdorim të gjerë në ruajtjen e materialeve të ndryshme bimore. Ruajtja e materialeve bimore *in vitro* në temperatura të ulëta varet edhe nga speciet për të cilat përdoret kjo metodë. Çdo specie dhe kultivar paraqet shkallë të ndryshme të rezistencës ndaj temperaturës së ulët dhe periudha të ndryshme ruajtjeje. Temperaturat e raportuara për ruajtjen afat-mesme të specieve janë zakonisht nga 4°C (Tassy *et al*., 2006).

Për disa specie, përdorimi i temperaturave të ulëta në sistemin e rritjes minimale paraqitet me shumë sukses. Prandaj kjo metodë përdoret sot si rutinë edhe në qendrat e mëdha të konservimit të gjermoplazmës (Dodds & Roberts, 1995).

Ruajtja e gjermoplazmës në temperaturë të ulët ka disa avantazhe, gjë që siguron përdorimin me sukses të kësaj metode (Pierik, 1988):

- Temperaturat e ulëta ngadalësojnë rritjen dhe zhvillimin në mënyrë të natyrshme, si dhe kufizojnë numrin e subkulturave të nevojshme;
- Numri i mutacioneve është më i ulët, përderisa numri i subkulturave është i vogël;

- Është e lehtë të planifikohet dhe të shkallëzohet prodhimi tregtar duke përdorur teknikat e temperaturës së ulët, përderisa, në parim, mund të kesh materialin bimor *in vitro* të disponueshëm në çdo kohë të vitit;
- Materiali bimor, që është "rinuar" me metodat *in vitro*, mbetet juvenil gjatë ruajtjes në të ftohtë, gjë që është me rëndësi të veçantë për shumimin vegjetativ.

Inkubimi i qelizave, indeve dhe organeve vegjetative të kultivuara *in vitro* realizohet më shpesh në temperatura 20°-30°C. Ruajtja në temperaturë të ulët është një nga teknikat më të përdorura për ruajtjen e materialit bimor të kultivuar *in vitro*. Në të tilla kushte, grumbullimi i lipideve të pangopura në membranën qelizore shkakton trashjen e kësaj të fundit dhe vonon ndarjen dhe zgjatjen qelizore (Engelmann, 1997). Sipas këtij parimi, materiali gjenetik mund të ruhet në temperatura shpesh pak mbi pikën e ngrirjes së ujit. Temperatura dhe zgjatja e ruajtjes në të ftohtë varet nga specia dhe tipi i materialit bimor, por zakonisht, temperatura në kufinjtë 0 – 5ºC rezulton efikase në konservimin e specieve tolerante ndaj të ftohtit. Në përgjithësi, bimët tropikale dhe subtropikale janë më pak tolerante ndaj temperaturave të ulëta. Psh bimëzat e *Coffee* sp. ruhen për disa muaj në temperaturë 20ºC (Desbrunais, 1992), ndërsa gjermoplazma e *Malus* sp. ruhet në temperaturë 1 - 4ºC (Orlikowska, 1992). Reduktimi i temperaturës është shumë efektiv për ruajtjen e hardhisë, patates, panxhar sheqerit, mollës, luleshtrydhes, dhe shumë bimëve foragjere. Prandaj kjo metodë përdoret sot si rutinë edhe në qendrat e mëdha të konservimit të gjermoplazmës (Dodds & Roberts, 1995; Neveen *et al.*, 2008; Ahmed *et al*., 2010).

Duhet theksuar se nga të gjitha metodat e përdorura për ruajtjen me metodën e rritjes minimale, ruajtja në temperaturë të ulët është më e përdorshme. Bimëzat e reja të rrënjëzuara të karafilit *in vitro* të ruajtura në temperaturë 4°C në një terren ushqyes standard mund të ruhen më shumë se një vit (Dereuddre & Tannoury, 1995), bimëzat e *Prunus armeniaca* mund të ruhen në temperaturë 3ºC për 24 javë (Perez-Tornero *et al.*, 1999). Një sistem i rritjes së ngadalësuar duke përdorur ruajtjen e majave të kërcejve të kiwit *in vitro* në 8°C është vlerësuar si metodë e përshtatshme për ruajtjen gjatë një viti të bimëve të *Actinidia deliciosa* cv. Hayward (Monette, 1995). Repozitorët *in vitro* të bazuara në këtë sistem janë të vlefshme për industrinë e bimës së kiwit. Duhet theksuar se temperatura 8°C është më e preferuar se ajo 4°C, pasi përqindja e mbijetesës ishte më e lartë dhe cilësia e kulturave ishte superiore, kur majat u ruajtën në 8°C.

Speciet bimore variojnë në kërkesën për ditë dhe errësirë gjatë ruajtjes. Shumë protokolle të ruajtjes në temperatura të ulëta realizohen edhe në kushtet e uljes së intensitetit të dritës apo errësirës së plotë (Wang *et al.*, 2000), por disa specie bimore ruhen në temperatura të ulëta, por me ndriçim të vazhdueshëm (Hvoslef-Eide, 1992). Bimëzat e *Malus* sp. (Orlikowska, 1992) apo *Prunus. armeniaca* (Perez-Tornero *et al.,* 1999) janë ruajtur më mirë në kushte të errësirës së plotë në temperatura të ulëta. Materiali bimor i species *Enest* sp. në kulturë *in vitro* u ruajt në temperaturë 15ºC dhe 18ºC dhe në fotoperiodë 16 orë për 12 dhe 15 muaj (Negash *et al*., 2001). Ruajtja e bimëzave të disa specieve të gjinisë *Mentha* sp. në terren ushqyes MS në temperaturë 2ºC u realizua për gjashtë muaj (Islam *et al*., 2003). Bimëzat e *Ruscus aculeatus* janë ruajtur për 16 muaj me anë konservimit *in vitro* në temperaturë të mjedisit pa subkulturë (Ivanova *et al*., 2011). Specia e rrallë *Imbricatus gladiolus*, është ruajtur deri në një vit në terrenin MS në kushte të errësirës dhe në temperaturë të ulët.

- **Modifikimi i terrenit ushqyes**

Reduktimi i rritjes është arritur përgjithësisht duke modifikuar terrenin ushqyes. Ndryshimet e terrenit ushqyes mund të përfshijnë hollim të përqendrimit të elementeve minerale, uljen e përqendrimit të sheqerit, uljen e përqendrimit të rregullatorëve të rritjes dhe shtimin e komponimeve osmotike aktive (Engelmann, 2011). Kjo metodë lejon ruajtjen e gjermoplazmës për disa muaj deri në disa vjet.

Rritja e materialit bimor mund të frenohet dukshëm, kur përqendrimi i rregullatorëve bimorë të rritjes gjendet në terren nën nivelet optimale (Gunning *et al.,* 1985). Ky efekt është përdorur gjerësisht për ruajtjen e materialit gjenetik. Për luleshtrydhen është arritur që të ruhen bimë mëma në terrenin JG-B në mungesë të rregullatorëve pa shfaqje të ndryshimeve në vetitë specifike të kultivarëve (Jungnickel, 1988). Teknikat e ruajtjes *in vitro* për *Fragaria* sp. përdorin nivele minimale të citokininave dhe auksinave për kulturat, kurse në terrenet ushqyese të ruajtjes nuk përdorin fitohormone (Reed & Hummer, 1995). Kjo metodë e ruajtjes ka rezultuar efikase edhe në ruajtjen për disa muaj të *Ramonda* sp. (Kongjika *et al*.,1998, 2002, 2010). Shibli *et al*., (1992) raportuan se rritja e sasisë së sakarozës, manitolit apo sorbitolit ngadalësojnë rritjen në mënyrë sinjifikante të bimëzave të bajames gjatë periudhës katër mujore në temperaturë të dhomës. Rritja e përqendrimit të sakarozës 3-8% frenon rritjen e meristemave të *Solanum* spp. (Espinoza *et al.,* 1984; Orlikowska, 1992), por rritja e eksplanteve është në varësi të përqendrimit të sakarozës. Supozohet se manitoli është i aftë të mbrojë integritetin e membranave dhe të ndalojë daljen e lëndëve nga qelizat. Në të tilla kushte zvogëlohet numri i subkulturave, e raportuar kjo në specie si *Chrysanthemun* sp. (Shibli *et al.,* 1992) dhe *Amygdalis* sp. (Shibli *et al.,* 1999). Sorbitoli i përdorur në kombinim me sasi të vogël të glukozës duket se është i vlefshëm për të frenuar rritjen e bimëve të *Mentha* sp. (George, 1996). Terreni ½ MS me rritje të sasisë së regullatorëve osmotikë si manitoli dhe sorbitoli përdoret me sukses për rritjen e ngadaltë të bimëzave të species *Smallanthus sonchifolius* (Skalova *et al*., 2012). Terreni MS me rritje të sasisë së manitolit ka frenuar rritjen e *Vitis vinifera* më mirë sesa kur në terren është rritur sasia e sorbitolit (Tehrim & Sajid, 2011).

Da Silva & Scherwinski-Pereira (2011) përdorën terrene me shtesa të acidit abscizik në *Piper aduncum* dhe *Piper hispidinervum* për të frenuar rritjen e bimëve.

2. Konservimi afatgjatë – Kriokonservimi

Kriokonservimi është metodë e sigurt dhe me kosto efektive për ruajtjen afatgjate të materialit gjenetik bimor, këtu materiali ruhet në azot të lëngët në temperaturë -196ºC. Gjatë kriokonservimit ndarja qelizore, proceset metabolike dhe biokimike ndërpriten (Hopkins, 1999; Burritt, 2008), por materialet mbeten të qëndrueshme gjenetikisht dhe ruajnë aftësinë ripërtritëse (Niino *et al*., 1995; Paul *et al*., 2000). Materiali i kriokonservuar kërkon një hapësirë shumë të vogël, por nevojitet furnizim i vazhdueshëm me azot të lëngët. Moment kritik gjatë këtij procesi është ulja dhe ngritja e temperaturës së materialit (Fuller *et al*., 2004). Janë zhvilluar disa metoda për të shmangur apo minimizuar hapat e rrezikshëm gjatë kriokoservimit. Eksitojnë tre faktorë kryesor të rrezikut gjatë kësaj procedure (Keller & Senula, 2010):

- Madhësia e objektit (materialit) që kriokonservohet;
- Përmbajtja e ujit në material;

- Shpejtësia e uljes/ngritjes së temperaturës.

Këta faktorë janë të lidhur ngushtë dhe ndërveprojnë me njëri tjetrin. Madhësia e materialit është vendimtare, sepse temperaturat lokale të materialit mund të çojnë në plasaritje të materialit. Rreziqet e teknikës janë formimi i kristaleve të akullit në qeliza që mund të shkatërrojnë sistemin membranor. Çdo ndryshim në përqendrimin e tretësirës së jashtme çon në plazmolizë, por në hapësirën mes murit qelizor dhe protoplastit mund të formohen kristale akulli, që mund të shkaktojnë shkatërrim të strukturës qelizore. Rreziku tjetër mund të jetë dhe rritja e përqendrimit të lëndëve duke arritur nivele toksike (Day *et al*., 2007; Engelmann & Engels, 2002).

Toleranca ndaj ngrirjes e një kulture mund të përmirësohet duke përcaktuar kohën e kulturës, kur shumica e qelizave ose indeve gjenden në stadin më të përshtatshëm të rritjes. Eksperimentet kanë treguar se shkalla e vakuolizimit është e rëndësishme në përcaktimin e shkallës së ndjeshmërisë së qelizave ndaj ngrirjes (Reed, 2008).

Me këtë metodë mund të konservohen pjesëza të ndryshme bimore si: suspensione qelizore, pjalm, kultura embriogjenike, embrione somatikë dhe zigotikë, sythe apo meristema. Manipulimi dhe transportimi rezulton me kursime në kohë dhe në hapësirë, ka kosto të ulët në pajisje dhe personel dhe redukton rrezikun e humbjes së materialit të vlefshëm nga ndotja ose gabimet njerëzore. (Mantell *et al.,* 1985; Engelmann & Engels, 2002).

Në përgjithësi, qëllimi është i njëjtë si i të gjitha metodave tjera të konservimit, ruajtja e sigurt për një kohë të gjatë të materialit bimor. Disa nga procedurat më kryesore që janë raportuar përfshinë, ftohja e ngadaltë (me dy kohë) (Withers, 1979), vitrifikimi (Sakai, 1990), enkapsulimi-dehidratimi (Dereuddre, 1990) dhe ngrirja e pikëzave të DMSO (Schafer-Menuhr, 1997). Në kohët e fundit janë përshkruar disa metoda me kombinimin e atyre standarde. Metoda më të thjeshta përdoren për sythet (Sakai, 1960) dhe farat "ortodokse" (Roberts, 1973; Stanwood & Bass, 1978), ndërsa ruajtja e pjalmit dhe e sporeve kërkon metoda më të komplikuara (Hanna & Towill, 1995; Agarwal *et al*., 1993).

Sot kriokonservimi përdoret si metodë efektive e ruajtjes së gjermoplazmës në formë qelizash, indesh apo organesh të shumë specieve për shumë vjet në qendrat ndërkombëtare të bankave gjenetike.

Metodat kryesore të kriokonservimit të materialit bimor janë (Keller & Senula, 2010):

- Ftohja e ngadaltë (me dy kohë);
- Enkapsulim – Dehidratimi;
- Vitrifikimi;
- Ngrirja e pikëzave të DMSO-së;
- Metodat e kombinuara;
- Ngrirja e sythave dimërore;
- Ngrirja e farave "ortodokse";
- Ngrirja e pjalmit dhe sporeve

Në dekadat e fundit, si rezultat i humbjeve shumëllojshmërisë bimore, interesi për ruajtjen e specieve të bimëve endemike, të rralla dhe të rrezikuara është rritur shumë. Në këtë rast bioteknologjia e bimëve ka dhënë një kontribut të veçantë me metoda të ndryshme në ruajtjen *ex situ* të gjermoplazmës së këtyre specieve (Holobiuc *et al*., 2006). Përdorimi i metodave të ndryshme për konservimin e resurseve gjenetike bimore po bëhet

çdo ditë e më shumë i domosdoshëm për ruajtjen e këtyre specieve me metodat e konservimit *ex situ* (Ashmore, 1997; Negash *et al*., 2001).

1.2.11. Histogjeneza e eksplanteve të konservuara *in vitro*

Ndryshimet në anatomi, morfologji dhe fiziologji mund të pasqyrojnë përshtatshmërinë e bimëve ndaj ndryshimeve të temperaturës (Klich, 2000). Temperaturat e ulëta ndikojnë në madhësinë dhe formën e qelizave fotosintetike, në pigmentet dhe si pasojë në fotosintezë (Georgieva & Lichtenthaler, 2006). Klorofili dhe pigmentet e tjera mund të ndikohen nga ndryshimet e temperaturës (Carter & Knapp, 2001) dhe mund të tregojnë azotin e shfrytëzuar nga bimët (Bigot & Bocaud, 1996, Von Wiren *et al.,* 1997). Ka disa raporte në lidhje me studimet mbi ndikimin e temperaturës në bimët kultivuara *in vitro*. Nievola *et al.*, (2005) kanë vërejtur se bimët e species *Ananas comosus* L. paraqitën një reduktim në rritjen, si dhe ndryshime në anatomi, kur kultivohen për tre muaj nën një termoperiodë 28°C dritë/15°C errësirë, në krahasim me ato të mbajtura në një temperaturë konstante prej 28°C. Bimët e ruajtura në 15°C kanë gjatësi shumë më të vogël tek rrënjët dhe bisqet, në raport me ato të mbajtura në 28°C, duke demonstruar ndikimin e temperaturës së ulët për rritjen. Rezultate të ngjashme janë vërejtur nga Pérez *et al*., (2001) me *Festuca arundinaceae,* tek e cila rënia e temperaturës nga 25°C deri 12°C ka shkaktuar një reduktim në rritje dhe në zonën e gjethes së bimëve.

Nuk janë vërejtur anomali në strukturën e gojëzave. Ky rezultat tregon se kushtet *in vitro* nuk shkaktojnë ndryshime në morfologjinë e gojëzave në kundërshtim me atë që vërehet në *Wrightia tomentosa* (Roxb.) (Joshi *et al*., 2006). Pérez *et al*., (2001) vuri në dukje se rënia e temperaturës nga 25°C deri 12°C në kulturën e *Festuca arundinaceae,* shkakton frenimin e rritjes, që shprehet në zonën e gjethes. Clarkson *et al.*, (1986) me specien graminore *Lolium perenne* L. vuri në dukje se në bimët e kultivuara në temperatura më të ulëta se 25°C, u formuan pak rrënjë në krahasim me bimët e kultivuara në 25°C. Ky rezultat ishte i lidhur me faktin se kur temperatura rritet, edhe numri i rrënjëve shtohet, duke kontribuar kështu në thithjen më të madhe ushqyese në temperatura të larta, gjë që stimulon rritjen e bimëve.

1.3. VEÇORITË E EPIDERMITEVE TEK SPECIET E FAMILJES *ASTERACEAE*

Epiderma mbulon organe bimore të tilla si kërcelli, gjethja, rrënja, petalet dhe paraqitet me variacione të strukturave të saj. Ajo është funksionalisht shumë e rëndësishme, sepse mbart dy struktura të rëndësishme si gojëzat dhe trikomat. Rëndësia taksonomike e karaktereve epidermike në gjethe është e dokumentuar mirë (Palmer & Jones, 1986; Jayeola *et al*., 2001; Adedeji & Illoh, 2004; Adedeji, 2004) dhe në literaturën e sotme trajtohet si një problem i veçantë për shkak të ndryshueshmërisë që ato mund të shfaqin në gjinitë apo dhe speciet e së njëjtës familje (Sinclair & Sharma,1971). Parametrat epidermalë merren parasysh gjatë studimit të biodiversitetit tek bimët, si rezultat i ndryshueshmërisë që pësojnë për shkak të ndjeshmërisë së lartë të tyre ndaj ndryshimit të kushteve mjedisore. Këto struktura histologjike duke u përshtatur shumë shpejt ndaj ndryshimit të këtyre kushteve, i reflektojnë në mënyrë relativisht të shpejtë në morfologjinë dhe strukturën e tyre. Për një specie bimore, trikomat gjethore

dhe strukturat stomatale janë të kontrolluara nga mekanizma specifikë gjenetikë. Për këtë arsye, variacioni në trikoma dhe në gojëza shpesh shfaq mutacion të variantit. Meqë variacioni somaklonal mund të ndodhë në nivele të ndryshme të bimëve të mikroshumuara, karakteristikat e trikomave dhe të gojëzave janë markerë të rëndësishëm, që përdoren gjerësisht për përcaktimin e variacionit somaklonal (Zhao *et al.,* 2006). Kur dendësia stomatale është e ulët, numri i trikomave është i lartë dhe anasjelltas. Kjo dukuri mund të lidhet me funksionet e trikomave, të cilat përveç se sekretojnë lëndë që mund të mbrojnë bimët nga grabitqarët, mund edhe në mënyrë indirekte të ndikojnë në transpirimin e ujit duke ulur kështu temperaturën në gjethe (Larcher, 2000). Një ndryshim i dendësisë stomatale mund të përdoret si tregues i ndryshimit të mjedisit (Case, 2004). Disa studiues kanë treguar se dendësia stomatale ndryshon në përgjigje të disponueshmërisë së ujit (Edward & Meidner, 1978), intensitetit të dritës (Retallk, 2001; Lu *et al*., 1993), temperaturës (Ciha & Brun, 1975), vendndodhjes gjeografike (Retallk, 2001) dhe përqendrimit të CO_2 (Bristow & Looi, 1968; Woodward, 1987; Woodward & Bazzaz, 1988). Sipas Olatunji (1983), indeksi stomatal mund të përdoret për përcaktimin e specieve.

1.3.1. Struktura, funksionet dhe llojet e gojëzave në familjen *Asteraceae*

Stoma (gojëza) është pore e krijuar në epidermën e gjethes dhe të kërcellit. Gojëzat kanë si funksion shkëmbimin e gazeve nga varet fotosinteza dhe frymëmarrja, dhe transpirimin e ujit. Gojëzat janë të rrethuara nga një çift i specializuar i qelizave të njohura si *qelizat e gojëzave*, të cilat janë përgjegjëse për rregullimin e madhësisë së hapjes së porit. Krahas tyre stoma ka dhe *qeliza shoqëruese*. Aparati stomatal përbëhet nga qelizat e gojëzave, të cilat kanë një numër të caktuar kloroplastesh dhe qelizat shoqëruese. Qelizat e gojëzave kanë formë të spikatur në sipërfaqe, ndërsa qelizat epidermale kanë formë të çrregullt. Qelizat e gojëzave përmbajnë kloroplaste që marrin pjesë në fotosintezë. Pikërisht numri dhe forma e këtyre qelizave janë bazë në karakterizimin e gojëzave, krahas parametrave të tillë si dimensionet e tyre dhe numrin për njësi gjethore. Ato janë në gjendje për të kuptuar ndryshime shumë të vogla në përqendrimet e CO_2 dhe për t'iu përgjigjur një serie reaksionesh biokimike, të cilat do të rezultojnë në hapjen ose mbylljen e gojëzave (Rahman, 2011). Mbyllja e gojëzave në kushte të thata atmosferike ose të tokës kufizon difuzionin e CO_2 nga atmosfera në kloroplaste. Si rezultat, shpërndarja e gojëzave në sipërfaqen e gjetheve është e ndërlidhur fort me kushtet hidrologjike (Aasamaa *et al*., 2001; Franks *et al*., 2009).

Stomat mund të jenë të vendosura në të dy epidermat e gjethes dhe në këtë rast njihen si *amfistomatike*. Kur ndodhen vetëm në epidermën e sipërme emërtohen si *epistomatike* (Fig. 1.3.1) dhe kur gjënden të vendosura vetëm në epidermën e poshtme emërtohen si *hipostomatike* (Freire *et al.*, 2007), (Fig. 1.3.2).

Densiteti stomatal zakonisht varion nga 100 deri 300/mm^2 për gjethet e shumë specieve (Esau, 1965). Në sipërfaqen e sipërme, densiteti është më i lartë në *Bidens pilosa* dhe më i ulët në *Emilia coccinea* dhe *Chromolaena odorata*. Në sipërfaqen e poshtme, ky parametër është më i lartë në *Emilia coccinea* dhe më i ulët në *Vernonia cinerea*.

Në familjen Asteraceae, gojëzat janë të pranishme në të dyja sipërfaqet e gjethes përveç në specien *Artemisia armeniaca*. Densiteti stomatal në sipërfaqen e poshtme zakonisht është më i lartë se në sipërfaqen e sipërme me disa përjashtime (*Achiella* dhe

Anthemis). Speciet *Artemisia armeniaca*, *Carduus thoermeri*, *Centaurea zavandica*, *Cirsium osseticum Crepis sancta, Hieracium pilosella, Inula vulgaris, Tanacetum graminifolius* dhe *Trapogon reticulatus* kanë densitetin stomatal më të lartë në gjininë përkatëse. Specia *Centaurea zavandica* ka densitetin stomatal më të lartë në familjen *Compositeae* (*Asteraceae*) me një mesatare 409/mm^2 në sipërfaqen e poshtme.

Në familjen *Asteraceae* janë të pranishme katër tipe të gojëzave: anomocitik, anizocitik, paracitik dhe diacitik. Cronquist (1968) sugjeroi që tipi anomocitik i gojëzave është primitiv. Baranova (1972) sugjeroi që tipi paracitik është primitiv. Cronquist (1981) ka riparaqitur mendimin e tij shumë qartë. Edhe pse tipi anomocitik i gojëzave është primitiv për bimët enëzore, tipi paracitik është ndoshta primitiv brenda angjiospermeve.

Në gjinitë *Artemisia, Centaurea, Hieracium, Trapogon* dhe *Tanacetum* qelizat roje janë më të mëdha në sipërfaqen e poshtme sesa në të sipërmen, ndërsa në *Carduus, Cirsium* dhe *Inula* ndodh e kundërta. Madhësia e gojëzave është e ngjashme në të dy sipërfaqet në specien *Achillea millefolium* në gjininë *Crepis* (Zanrinkamar, 2007).

Gjatë studimit të specieve të caktuara dhe të reagimit të tyre në kushte të caktuara rritjeje, nuk është karakteristike vetëm forma e gojëzës, por edhe shpërndarja, orientimi, indeksi stomatal etj. Numri dhe forma e qelizave shoqëruese janë parametra bazë për karakterizimin dhe klasifikimin e gojëzave. Tipet e gojëzave janë bazuar në numrin dhe formën e qelizave shoqëruese.

Për klasifikimin dhe emërtimin e llojeve të gojëzave në studimin tonë jemi mbështetur në nomeklaturën e emërtimit sugjeruar nga Freire *et al.*, 2007; Zekaj *et al*., 2007; Giuliano, 2000; Barroso, 1976; Claessens *et al*., 1973 dhe Adedeji *et al*., 2008 për familjen *Asteraceae*.

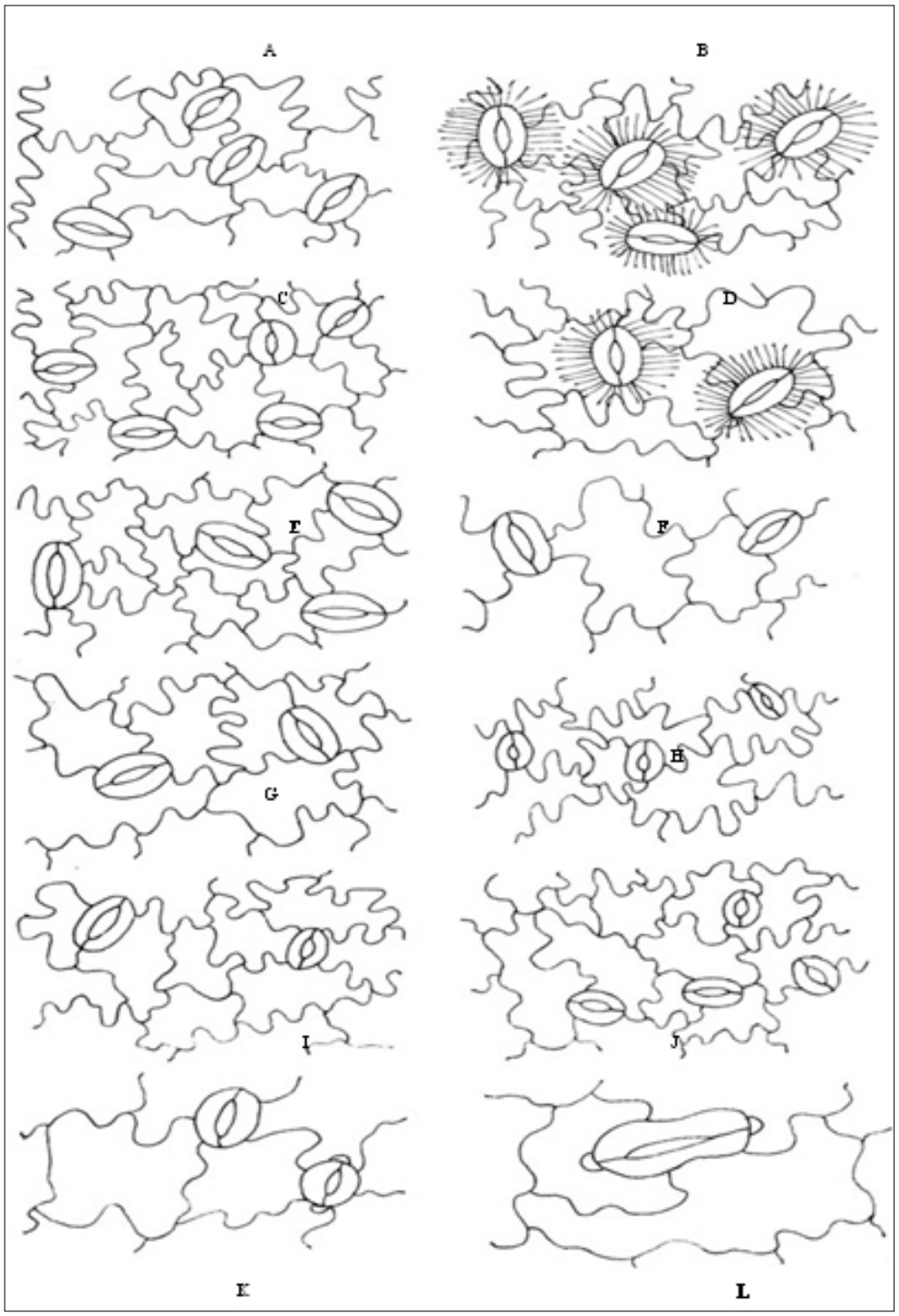


Figura 1.3.1. Aparati stomatal në epidermën e sipërme në disa specie të familjes *Asteraceae*: **A.** *Vernonia cinerea;* **B.** *Vernonia amygdalina*; **C.** *Aspilia africana*; **D.** *Bidens pilosa*; **E.** *Tithonia diversifolia*; **F.** *Launaea taraxacifolia*; **G.** *Tridax procumbens*; **H.** *Chromolaena odorata*; **I.** *Ageratum conyzoides*; **J.** *Synedrella nodiflora*; **K.** *Emilia coccinea*; **L.** *Emilia praetermissa* (Adedeji *et al*., 2008).

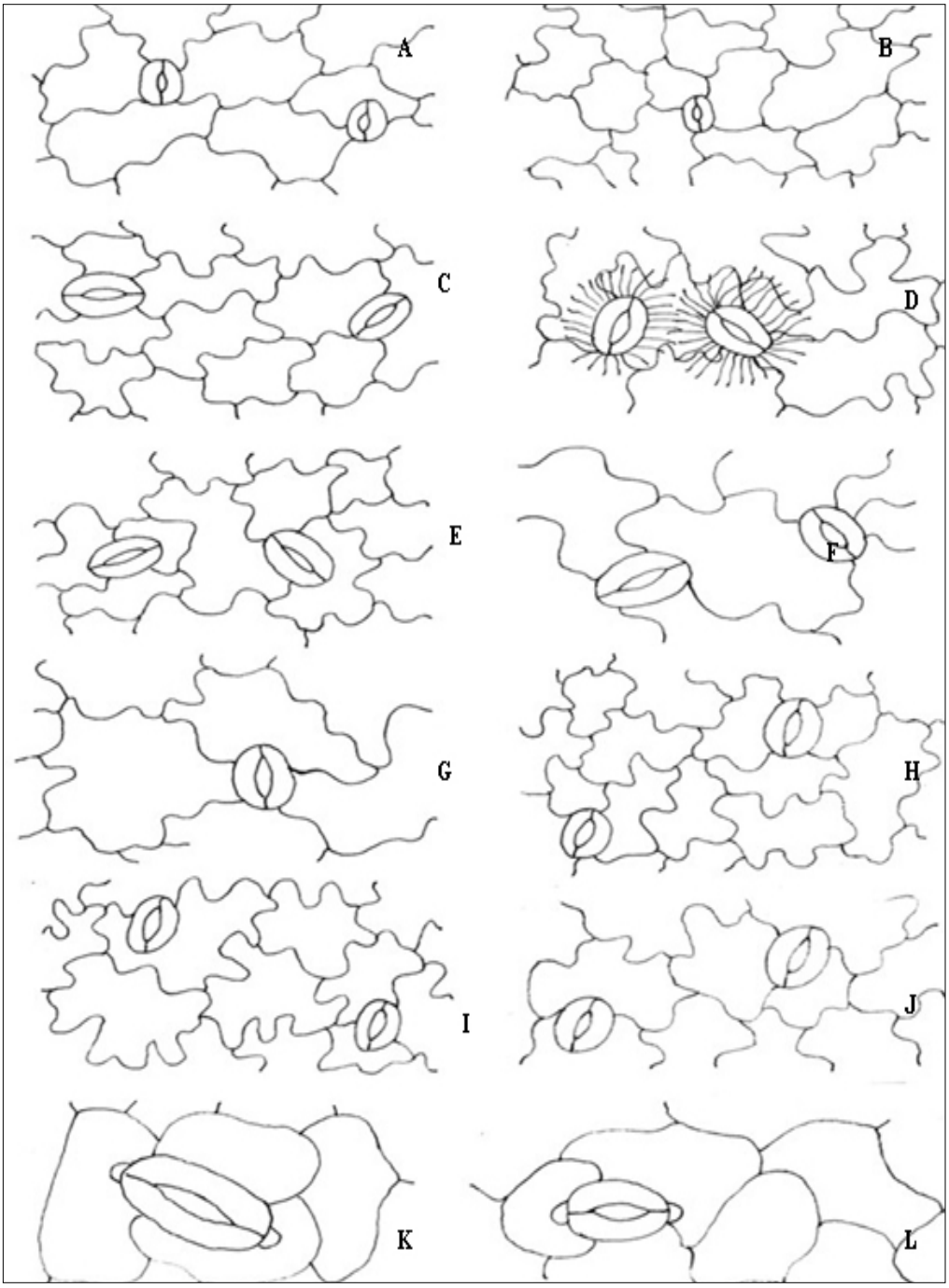


Figura 1.3.2. Aparati stomatal në epidermën e poshtme në disa specie të familjes *Asteraceae*: **A**. *Vernonia cinerea;* **B.** *Vernonia amygdalina;* **C**. *Aspilia africana;* **D.** *Bidens pilosa;* **E.** *Tithonia diversifolia;* **F.** *Launaea taraxacifolia;* **G.** *Tridax procumbens;* **H.** *Chromolaena odorata;* **I.** *Ageratum conyzoides;* **J.** *Synedrella nodiflora;* **K.** *Emilia coccinea;* **L.** *Emilia praetermissa* (Adedeji *et al*., 2008).

1.3.2. Struktura, funksionet dhe llojet e trikomave në familjen *Asteraceae*

Epiderma zakonisht formon dalje të njohura si qime. Qimet epidermale në rrënjët janë dhe shumëqelizore dhe quhen qimet e rrënjëve. Qimet e rrënjëve futen midis pjesëve të tokës për të thithur ujin. Në kërcell dhe në gjethe, qimet epidermale janë një ose shumëqelizore dhe janë të njohura si *trikoma*. Ato kanë si funksion mbrojtjen e organeve të bimës nga transpirimi i tepërt i lagështisë (Bendre & Kumar, 1997) dhe nga dëmtues të ndryshëm të tillë si insektet etj. (Wagner, 1991). Trikomat marrin pjesë edhe në sekretimin e disa komponimeve terpenoide me vlera për industrinë farmaceutike.

Trikomat përbëhen nga dy pjesë: *trupi* - pjesa dalëse jashtë shtresës epidermale dhe mund të ketë kokë gjëndërore ose jogjëndërore dhe *baza* – është pjesa e ngulitur në shtresën epidermale dhe nuk është e dukshme jashtë vetë indit.

Në një familje të caktuar gjinden trikoma me një formë të caktuar, që i dallon nga ato të familjeve të tjera (Fig. 1.3.3; 1.3.4; 1.3.5; 1.3.6). Kastro *et al.* (1997) bëri një përshkrim të disa llojeve të trikomave në disa specie të familjes *Asteraceae* duke i përdorur ato si element identifikimi. Në nivel specifik, studimet e trikomave janë gjetur të jenë me vlerë nga shumë autorë (Faust & Jones, 1973; Rollins & Shaw, 1973; Adedeji, 2004; Adedeji *et al*., 2007.). Sipas Metcalfe & Chalk, (1979), prania e një lloji të veçantë trikome shpesh mund të caktojë kufijtë e specieve, gjinive apo edhe familjeve. Rëndësia taksonomike e trikomave në bimët e familjes *Asteraceae* (*Compositae*) është theksuar nga Carlquist, (1961a, 1961b). Ai ka qenë në gjendje të ilustrojë në mënyrë të qartë evolucionin e llojeve të veçanta të trikomave përmes studimeve në fisin *Madiinae*.

Nisur dhe nga ndërtimi i tyre, trikomat kanë funksione të ndryshme (Freire *et al.,* 2007; Zekaj *et al.,* 2007). Trikomat sipas morfologjisë klasifikohen në një seri grupesh dhe nëngrupesh, të cilat karakterizohen nga një terminologji specifike (Ramayya, 1962).

Trikomat ndahen në dy grupe të mëdha:

- *Trikoma gjëndërore* (*granulare*), që kryesisht kanë funksion sekretor duke luajtur rol të rëndësishëm si grumbulluese të metabolitëve sekondarë. Në to realizohet grumbullimi i esencave eterike vajore dhe ruajtja e tyre;
- *Trikoma jo gjëndërore (agranulare*), paraqiten të drejta, të përdredhura ose të degëzuara, në formë pushi ose gjëmbash, një qelizore ose shumë qelizore. Ato të vendosura kryesisht në gjethe kanë funksion mbrojtës në disa drejtime: ngadalësojnë transpirimin, mbrojnë bimën nga insektet, mbrojnë gjethet nga veprimi i rrezatimit ultravjollcë etj.

Në bimët e familjes *Asteraceae*, trikomat ndodhen në kërcellin, bishtin e gjetheve dhe në gjethe. Studimi i trikomave është fokusuar në formën e kokës së trikomave gjëndërore, të cilat janë të zakonshme në këtë familje. Të gjitha trikomat gjëndërore janë biseriate në familjen *Asteraceae* dhe janë përshkruar si të tilla në: *Helichrysum / Inuleae* (Ascensão *et al*., 2001), *Inula / Inuleae* (Werker & Fahn, 1981), *Sigesbeckia / Heliantheae* (Heinrich *et al*., 2002) dhe *Vernonia galamensis / Vernonieae* (Favi *et al*., 2008). Trikomat gjëndërore janë raportuar në shumë gjini të familjes *Asteraceae* (Kelsey *et al*., 1984: Spring & Buschmann, 1996; Spring, 2000). Trikomat jogjëndërore dhe gjëndërore shumëqelizore janë raportuar nga disa autorë (Spring *et al*., 1992; Harr & Guggenheim, 1995; Göpfert *et al*., 2010). Göpfert et al., 2010). Ka një nomenklaturë që i klasifikon dhe i emërton ato. Çdo specie prodhon trikoma të cilat janë përshtatur me mjedisin dhe si të tilla paraqesin një variacion të gjerë në formë, përmasë, përbërje, përmbajtje etj. Për klasifikimin dhe

emërtimin e llojeve të gojëzave në studimin tonë jemi mbështetur në nomeklaturën e emërtimit sugjeruar nga Freire *et al.*, 2007; Zekaj *et al.*, 2007 dhe Adedeji *et al*., 2008 për familjen *Asteraceae*.

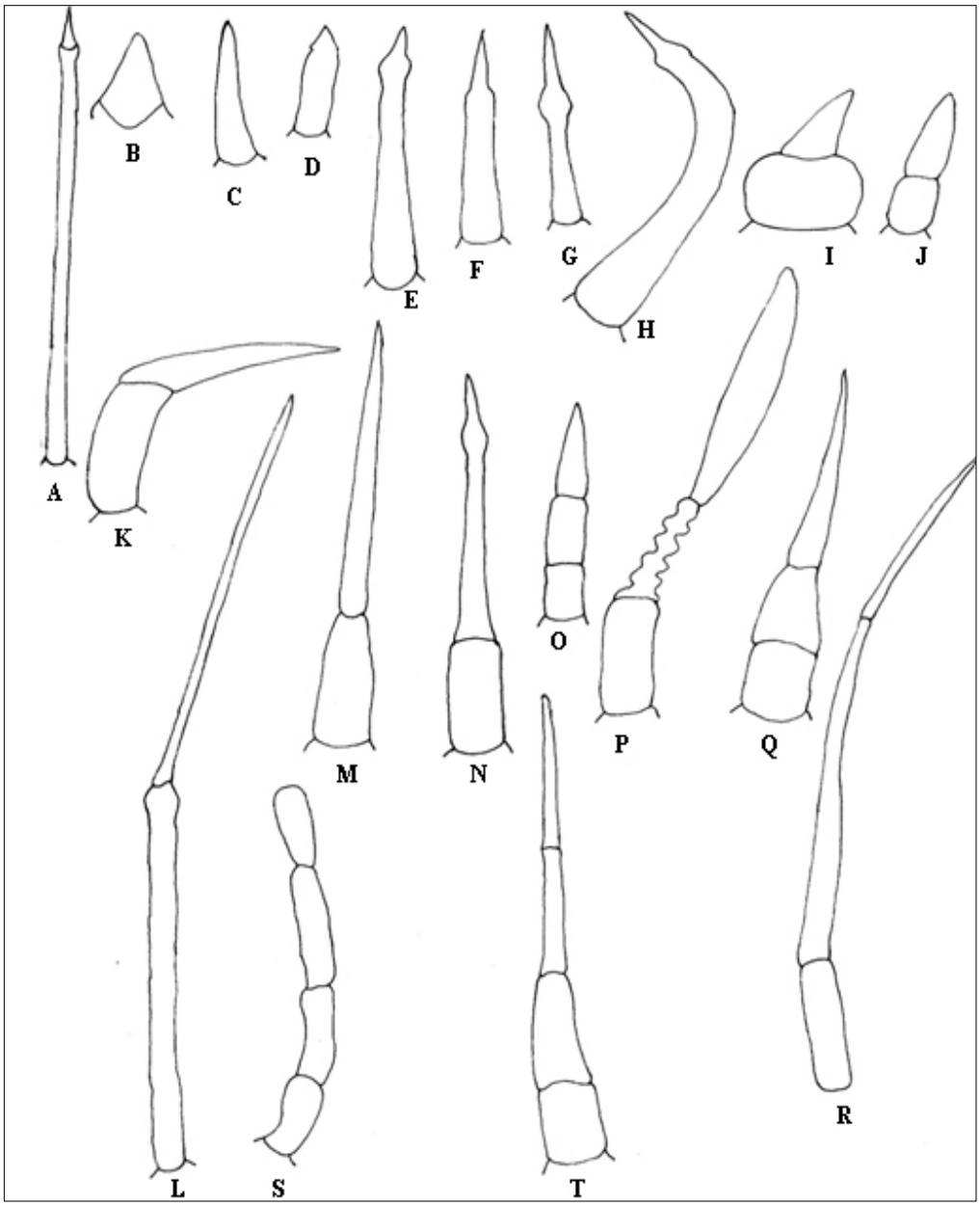


Figura 1.3.3. Llojet e trikomave jo gjëndërore në familjen *Asteraceae*: **A.** Njëqelizore; **B.** lloj gjëmbi si **C-H.** lloje të ndryshme njëqelizore; **I-N.** lloje të ndryshme dyqelizore; **O-T.** lloje të ndryshme shumëqelizore (Adedeji *et al*., 2008).

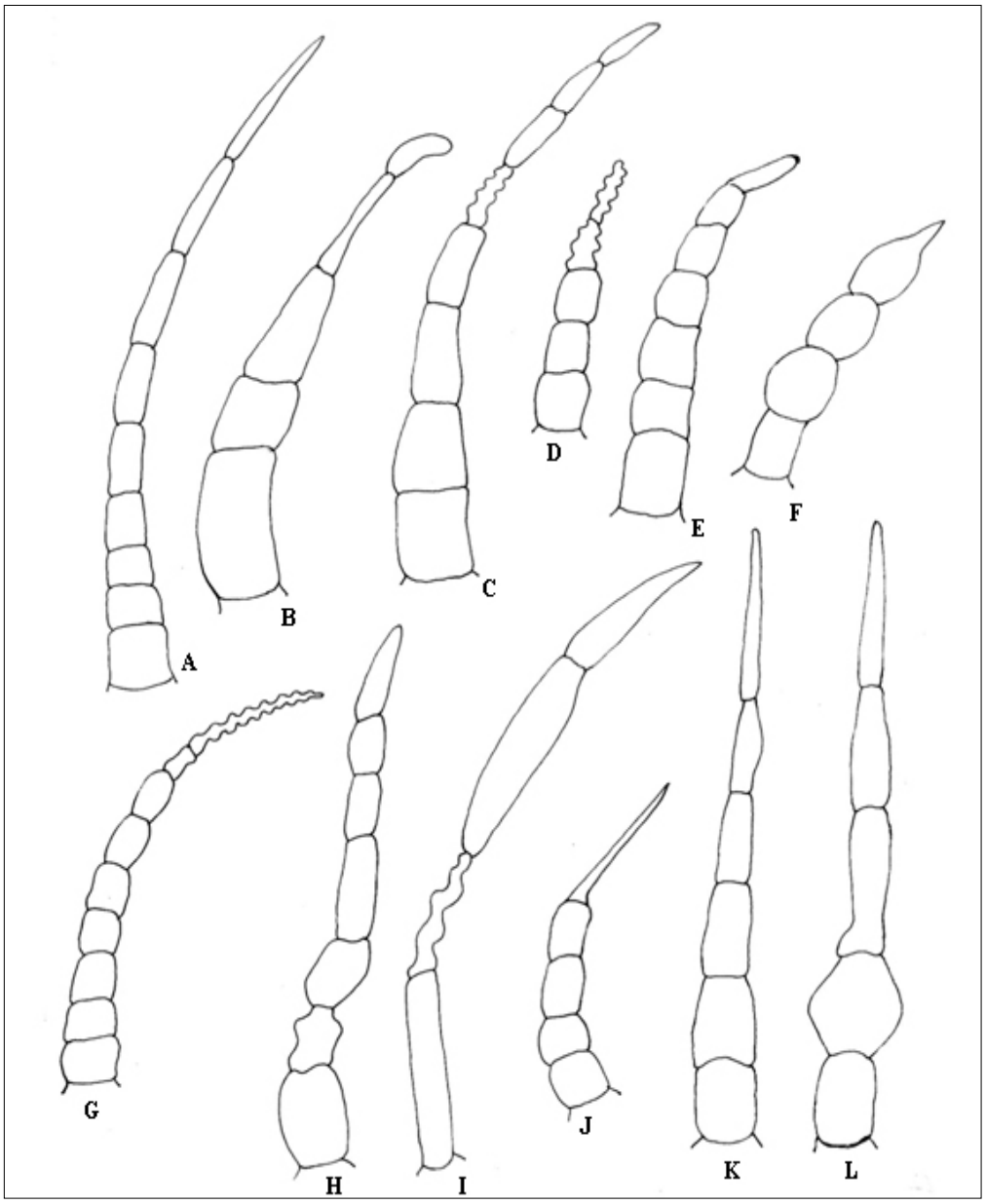


Figura 1.3.4. Llojet e trikomave shumëqelizore jo gjëndërore në familjen *Asteraceae*: **A.** majë mprehtë; **B.** majë drapër; **C.** me një qelizë të rrudhur; **D.** me dy qeliza të rrudhura në majë; **E.** flagjelore me qeliza të rrumbullakta; **F.** flagjelore me qeliza jo rrethore drejt fundit qeliza bulbore; **G.** flagjelore me qeliza të rrudhura; **H.** një qelizë e hollë e rrudhur; **I.** Një qelizë e rrudhur; **J.** Flagjelore me qeliza jo rrethore; **K.** flagjelore me qeliza të holla majë mprehtë; **L.** flagjelore me qeliza majë mprehtë, një qelizë bulbore. (Adedeji *et al*., 2008).

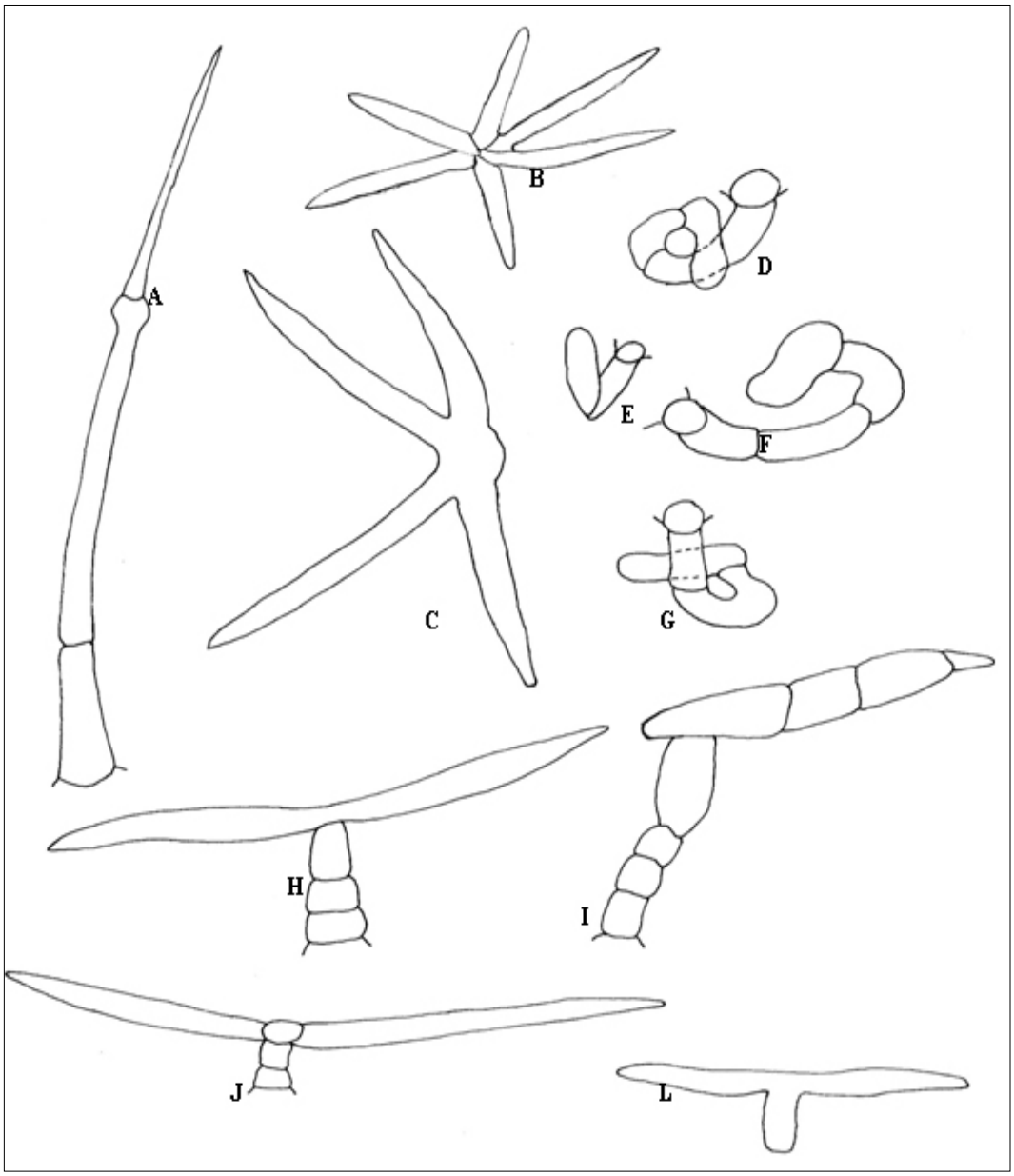


Figura 1.3.5. Llojet e trikomave jo gjëndërore në familjen *Asteraceae*: **A**. triqelizore/shumëqelizore; **B.** Yllore; **C.** në formë tetraradiate; **D, F, G.** formë ameboide; **E.** formë V-je; **H,J.** formë T e rregullt; **I.** formë T jo e rregullt (Adedeji *et al.*, 2008).

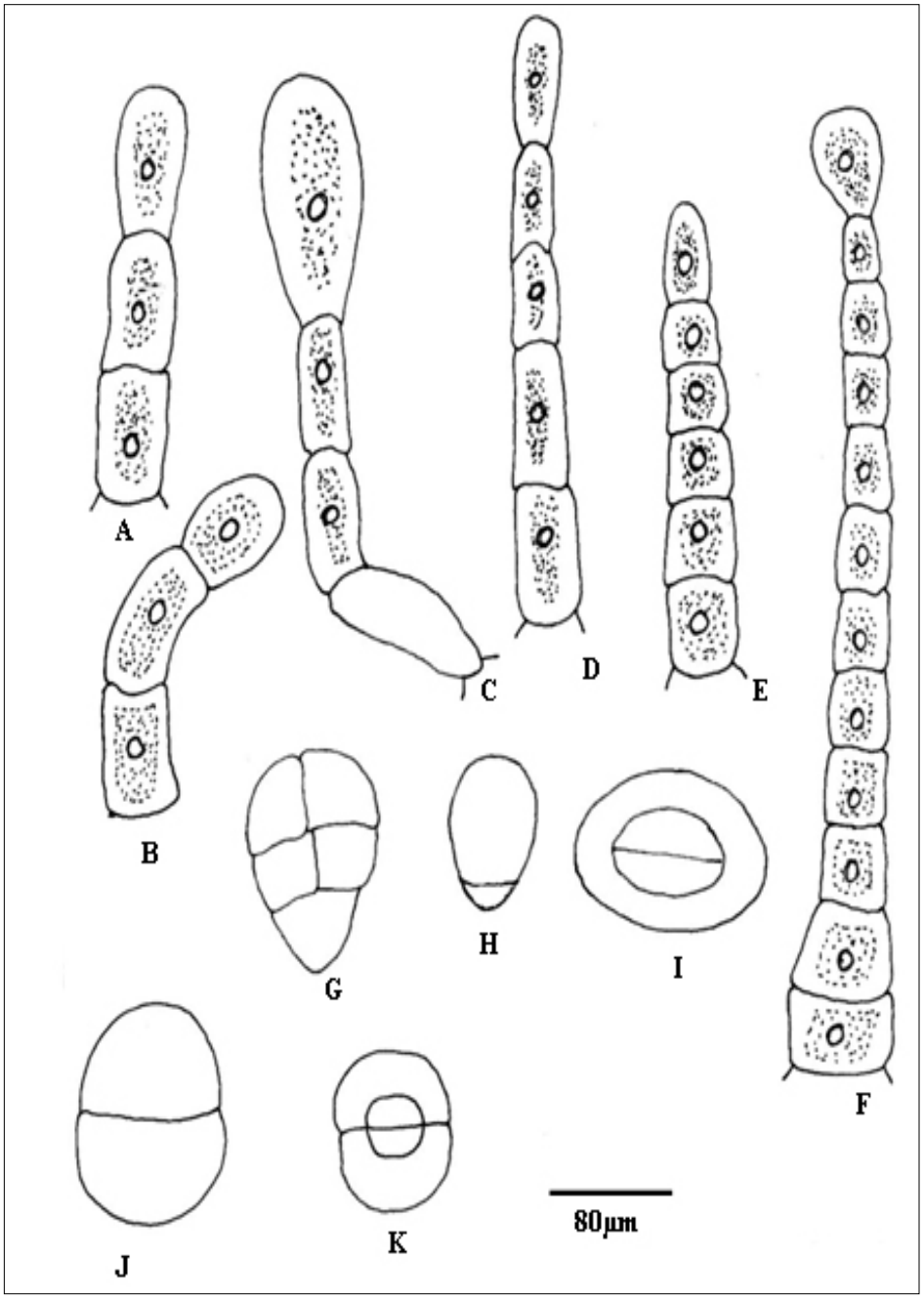


Figura 1.3.6. Llojet e trikomave gjëndërore në familjen *Asteraceae:* **A – B**. me kokë dyqelizore; **C – F.** shumështresore; **G**. bulbiforme; **H.** me kokë njëqelizore; **I – K**. peltate (Adedeji *et al.*, 2008).

KAPITULLI II
MATERIALET DHE METODA

2.1. Materiali bimor

Janë përdorur bimë të species *Aster albanicus* Degen (emri shqip- Aster shqiptar).

Ekspeditat për grumbullimin e materjalit bimorë u realizuan në dy vite të ndryshme:

- për *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja, eksplantet janë izoluar në muajin maj (24-25) të vitit 2010 dhe në muajin maj (26-27) të vitit 2011 në zonën e Divjakës;
- për *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* eksplantet janë izoluar në muajin shtator (27-28) të vitit 2010 dhe në muajin maj (26-27) të vitit 2011 në zonën e Shkopetit.

Koordinatat e të dyja zonave janë dhënë më poshtë dhe janë përcaktuar me GPS.

Bimët e marra nga habitatet u mbollën në vazo sipas popullatave dhe individëve. Ato u ruajtën për marrjen e ekplanteve fillestare në studimin *in vitro*.

2.2. Pajisjet e përdorura për studim

- Fluks laminar, autoklavë, termostat sterilizimi, frigorifer;
- pH-metër, distilator, peshore elektronike;
- Dhomë e kulturave *in vitro* me kushte të kontrolluara;
- Mikroskop Olympus dhe me Fluoreshence;
- Stereomikroskop trinokular Paralux;
- Mikrotom;
- Fotografimi i eksplanteve është bërë me aparatet dixhital Olympus.

2.3. Metodat e studimit

2.3.1. Kultivimi *in vitro*

- ***Eksplantet fillestare***

Materiali bimor për kultivimin *in vitro* u mor nga bimë të rritura të species *Aster albanicus* Degen. Eksplantet e *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja janë marrë nga popullata e Divjakës dhe eksplantet e *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* janë marrë nga popullata e Shkopetit.

Eksperimenteve u janë nënshtruar:

- Eksplante fillestare si sisteme të organizuara: sythet e majës rritëse dhe sythe anësore (1-2cm), që zhvillohen sipas organogjenezës direkte;
- Eksplante fillestare të paorganizuara: copa gjethesh (me madhësi 0.5-0.5 cm), që zhvillohen sipas organogjenezës indirekte (kallusogjenezës).

- ***Dezinfektimi i eksplanteve***

Eksplantet dezinfektohen si materiale fillestare më të mëdha para prerjes së tyre në madhësitë e duhura. Fillimisht lihen në ujë të rrjedhshëm për rreth një orë, duke siguruar kështu një shpëlarje më të mirë dhe mufatje të pjesëve bimore. Më pas trajtohen me tretësirë biklorur mërkuri ($HgCl_2$) 0,1% për 5 min. Eksplantet shpëlahen 3 herë me ujë të distiluar dhe steril. Pas kësaj, eksplantet inokulohen me shpejtësi në terren ushqyes në provëza për të shmangur tharjen e eksplanteve. Të gjitha këto manipulime realizohen në boksin steril me fluks laminar me ajër steril dhe rrezatim UV (Kongjika *et al.*, 2004).

- ***Inokulimi i eksplanteve***

Pas dezinfektimit:

- Sythet e majës dhe anësorë çvishen nga pështjellat e jashtme, priten në madhësitë përfundimtare (1-2 cm) dhe pastaj inokulohen në terrenin ushqyes. Sythet vendosen vertikalisht me bazën e tyre në terren;
- Copat e gjetheve priten në madhësitë përfundimtare (0.5-0.5 cm) dhe pastaj inokulohen në terrenin ushqyes. Copat e gjetheve vendosen të shtrira. Epiderma e poshtme vendoset në kontakt me terrenin ushqyes.

Eksplantet inokulohen me shpejtësi në terrenin ushqyes në provëza për të shmangur tharjen e tyre.

- ***Përbërja e terreneve ushqyese***

Në varësi të eksplantit të përdorur, subspecies dhe stadit të zhvillimit janë përdorur terrene ushqyes me fitohormone të ndryshme dhe në raporte specifike, por megjithatë terreni bazë në të gjitha rastet ka qenë ai MS (Murashige & Skoog,1962) (Pasqyra 2.3.1).

Pasqyra 2.3.1. Përbërja minerale dhe vitaminike e terrenit ushqyes MS.

Përbërësit	**MS**	
Makroelementët	**mg l^{-1}**	**1 litër 10X**
KNO_3	1900	19000
NH_4NO_3	1650	16500
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	370	3700
KH_2PO_4	170	1700
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	440	4400
Mikroelementët	**mg l^{-1}**	**1 litër 10X**
H_3BO_3	6,2	62
$MnSO_4 \cdot H_2O$	16,9	169
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0,025	0,25
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0,25	2,5
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	8,6	86
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0,025	0,25
KJ	0,83	8,3
$Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	0,025	0,25
$NiSO_4 \cdot 6H_2O$	0,83	8,3

Kelati i hekurit	**mg l^{-1}**	**100ml 100X**
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	27,85	278,5 mg
Na_2 EDTA	37,3	373 mg
Vitaminat	**mg l^{-1}**	**100ml 100X**
Acid nikotinik	0,5	5
Piridoksinë HCl	0,5	5
Tiaminë HCl	0,1	1
Glycinë	2	20
Inozitol	100	1000

Për kripërat e makroelementëve, të mikroelementëve dhe vitaminat, si tretës është përdorur uji i distiluar. Të gjithë kripërat e makroelementëve janë tretur secili më vete me një sasi të vogël uji të distiluar (në mënyrë që të shmanget precipitimi). Më pas, janë bashkuar së bashku dhe është bërë tarimi deri në vëllimin e dëshiruar me ujë të distiluar. Në këtë mënyrë është përgatitur edhe tretësira stok e kripërave të mikroelementëve dhe i vitaminave. Tek vitaminat, përjashtim bën vetëm mioinozitoli që nuk është përfshirë në stok, por është peshuar në vlerën e dëshiruar dhe është shtuar në terren gjatë përgatitjes së tij.

Tretësirat stok të kripërave të makroelementëve dhe mikroelementëve përdoren deri në 5-6 muaj pas përgatitjes, ndërsa ato të vitaminave përdoren deri në 2 muaj, pasi ato degradohen.

Për fitohormonet dhe rregullatorët e tjerë të rritjes janë përgatitur tretësirat stok me përqendrimet e mëposhtme (Pasqyra 2.3.2):

Pasqyra 2.3.2. Përqendrimet e rregullatorëve bimorë të rritjes në tretësirat stok.

Emërtimi	**mg l^{-1}**	**100ml 100X**
Acidi naftalen acetik, ANA	1	10
Benzinë amino purina, BAP	1	10
Acidi giberelik, GA_3	1	10

Auksinat dhe giberelinat janë tretur paraprakisht në një sasi të vogël NaOH 1N (0.5ml), kurse citokininat janë tretur paraprakisht në një sasi të vogël HCl 1N (0.5ml). Më pas janë taruar deri në vëllimin e dëshiruar me ujë të distiluar (secila më vete).

Tretësirat stok të rregullatorëve bimorë të rritjes përdoren deri në dy javë pas përgatitjes dhe jo më tepër, pasi degradohen shpejt duke humbur kështu funksionin e tyre.

Të gjitha tretësirat e rregullatorëve bimorë të rritjes janë ruajtur në frigorifer në 4^0C dhe janë përzier në sasitë e dëshiruara vetëm gjatë përgatitjes së terrenit ushqyes.

Në terrenet ushqyese është shtuar sakaroza, është matur dhe rregulluar pH dhe është shtuar agari në vlerën e dëshiruar. Më pas, terrenet ushqyese janë ngrohur deri në vlim në banjo Mari në mënyrë që të mundësohet tretja e sakarozës dhe agarit. Pas kësaj, janë shpërndarë në enët e qelqit dhe janë autoklavuar në temperaturë 121^0C në presion 1 atm, për 20 min, në mënyrë që të sigurohen kushtet e asepsisë.

Terrenet ushqyese dhe raporti i rregullatorëve të rritjes në çdo stad zhvillimi është shpjeguar në mënyrë të detajuar më poshtë.

1- Organogjeneza direkte

Stadi I - proliferimi i eksplanteve:

- për *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja është përdorur terreni bazë ushqyes Murashige & Skoog (MS/2) me 0.1mg•l^{-1} ANA (auksinë) dhe 0.1mg•l^{-1} GA_3 (acid giberelik). (Kongjika *et al*., 2004);
- për *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* janë përdorur dy terrene:

1. terreni bazë ushqyes Murashige & Skoog (MS/2) me 0.1mg•l^{-1} ANA (auksinë) dhe 0.1mg•l^{-1} GA_3 (acid giberelik) (i njëjtë me të subsp. *paparistoi* Qosja).
2. terreni bazë ushqyes Murashige & Skoog (MS/2) me 0.1mg•l^{-1} ANA (auksinë), 0.1mg•l^{-1} GA_3 (acid giberelik) dhe 1mg•l^{-1} BAP (citokininë). (Kongjika *et al*., 2004; Kongjika *et al*., 2008)

Stadi II – subkultura:
Për të dyja subspeciet është përdorur terreni bazë ushqyes Murashige & Skoog (MS) me 0.1mg•l^{-1} ANA (auksinë) dhe 1mg•l^{-1} BAP (citokininë).
Për të tri terrenet ushqyese, sasia e sakarozës është 2% dhe e agarit 0.6%. Vlera e pH u saktësua në 5.9. (Kongjika *et al.,* 2004).

2- Organogjeneza indirekte

Faza I- Kallusimi (Congedo,C. 2001):
Për të dy subspeciet është përdorur terreni bazë ushqyes Murashige & Skoog (MS) me 0.5mg•l^{-1} ANA (auksinë) dhe 0.4mg•l^{-1} BAP (citokininë).

Faza II- Në stadin e zhvillimit të meristemoideve dhe sytheve të tjera:
Për të dy subspeciet është përdorur terreni bazë ushqyes Murashige & Skoog (MS) me 0.4mg•l^{-1} ANA (auksinë) dhe 0.5mg•l^{-1} BAP (citokininë).
Për të dy terrenet ushqyese, sasia e sakarozës është 2% dhe e agarit 0.6%. Vlera e pH u saktësua në 5.7 (Kongjika *et al.,* 2004).

- ***Kushtet e dhomës së kulturës***

Pas inokulimit të eksplanteve, bëhet etiketimi me datën e kulturës, emrin dhe llojin e eksplantit. Të gjitha kulturat kalohen në dhomën e kulturës me kushte të kontrolluara, me rëndësi për mbarëvajtjen e kulturës *in vitro* (Kongjika *et al.,* 2002).
Konkretisht: fotoperiodë 16-18 orë ndriçim ⁄ 24 orë dhe temperaturë konstante në kufijtë 20º-25ºC dhe intensitet ndriçimi 2000 luks.
Studimi i morfogjenezës dhe organogjenezës së eksplanteve është realizuar nëpërmjet matjeve morfometrike në faza të caktuara të zhvillimit të tyre të cilat janë fotografuar në stereomikroskop trinokular Paralux ose në natyrë me kamera dixhitale Olympus.

2.3.2. Konservimi *in vitro*

Si material bimor për konservim janë përdorur bimëzat *in vitro,* të prodhuara gjatë subkulturave. Teknika e ruajtjes së materialit gjenetik do të bazohet në zvogëlimin e aktivitetit të metabolizmit të qelizave, indeve ose organeve në mënyrë që të shmanget rritja, por të ruhet mundësia e rigjenerimit. Kulturat *in vitro* do të ruhen sipas metodës së rritjes minimale. Teknikat e ruajtjes së gjermoplazmës të bazuara në kulturat e majës së kërcellit dhe të meristemave duhet të ruajnë stabilitetin gjenetik të bimës mëmë dhe të lejojnë vetëm intensitete minimale të rritjes. Modifikimi i faktorëve të ndryshëm ngadalëson ose frenon plotësisht rritjen e bimëve. Në studimin tonë do të përdoren këto metoda:

1. -Konservimi me anë të reduktimit të përqendrimit të fitohormoneve ose rregullatorëve të rritjes në terrenin ushqyes (Kongjika *et al*.1998).

Bimëzat *in vitro* të prodhuara gjatë subkulturave janë transferuar në terren ushqyes MS, pa fitohormone, në kushte normale të fotoperiodës dhe të temperaturës. Përbërësit e tjerë janë të njëjtë me ato të terrenit të subkulturës. Kulturat janë ruajtur në të tilla kushte për periudha të ndryshme (3, 5, 7, 9, 11,13 muaj).

2- **Konservimi me anë të reduktimit të temperaturës dhe të ndriçimit** (Neveen *et al*., 2008; Ahmed *et al*,. 2010).

Bimëzat *in vitro* të prodhuara gjatë subkulturave u mbajtën për rreth dy javë në dhomën e kulturës *in vitro* në kushte normale. Pas kësaj periudhe, bimëzat u transferuan në kushte të errësirës së plotë dhe të reduktimit të temperaturës në frigorifer (4^{o}C). Terreni ushqyes është i njëjtë me terrenin e subkulturës. Kulturat janë ruajtur në të tilla kushte për periudha të ndryshme (3, 5, 7, 9, 11,13,15 muaj).

Për konservimin e bimëzave me të dy metodat, janë vendosur nga 2 paralele me nga 20 bimëza *in vitro* për secilën metodë. Për secilën metodë janë analizuar përqindja e mbijetesës gjatë konservimit në periudha të ndryshme kohore dhe përqindja e rigjenerimit të bimëzave pas transferimit në terren të freskët (terreni i subkulturës) dhe inkubimit në kushte normale.

2.3.3. Studimi histologjik

Materiali bimor për analizat histo-citologjike u mor nga bimë të rritura *in vitro* dhe të konservuara. Në studimin tonë, teknikat e trajtimit të eksplanteve janë:

- ***Teknika e përgatitjes së preparateve të gjalla***

- **Teknika e prerjeve**

Studimi i indeve dhe ndërtimi i organeve të bimëve *in vitro* dhe të konservuara (rrënjës, kërcellit dhe gjethes) realizohet duke bërë prerje. Prerjet bëhen transversale (tërthore). Këto prerje realizohen, kur ato bëhen pingul me boshtin e organit që do të pritet. Prerjet bëhen me brisk të mprehtë dhe me ndihmën e palcës së shtogut. Materiali (rrënja, kërcelli

dhe gjethja), vendoset në mes të të dy copave të palcës së shtogut, e cila ndihmon për të bërë prerje të holla (Topuzi, 2005).

- ***Teknika e ngjyrimit***

Prerjet kalohen në një xham sahati me ujë të distiluar, pastaj kalohen në një xham sahati me blumetilen ku lihen 2-3 minuta për tu ngjyrosur. Pas ngjyrimit prerjet dërgohen përsëri në një xham sahati me ujë të pastër për tu shpëlarë. Pas këtij veprimi, prerjet janë gati për t'u vëzhguar.
Përgatitja e blumetilenit: Peshohet 0,05 g blumetilen dhe tretet në 100 ml ujë të distiluar.

- ***Përgatitja e preparatit dhe vrojtimi***

Në qendër të lamës lëshojmë një pikë glicerinë, vendosim prerjet më të holla dhe i mbulojmë me lamelë. Preparatet e përgatitura janë vrojtuar në mikroskop Olympus me objektiv 40x. Fotografimi i prepareteve është realizuar me kamera Olympus, janë përpunuar në program kompjuterik Microgliciel dhe Fotoshop.

❖ ***Teknika e përgatitjes së prepareteve të fiksuara***

***a*- Përgatitja e prepareteve të inkluduara në parafinë ose paraplast (Falaska *et al.*, 2000):**

- ***Fiksimi***

Prerjet histologjike të kalluseve janë realizuar në pjesë të kallusit të fiksuar në formaldehid/acid acetik/etanol (FAA) për 3ditë.

- ***Dehidratimi***

Kalluset janë dehidratuar në serinë e alkoolit etilik (50º, 60º, 70º, 80º dhe 90º), ku janë mbajtur për rreth 2 orë.

- ***Inkludimi në parafinë ose paraplast***

Më tej janë zhytur në përzierjet metanol:benzol për 3:1, 1:1, 1:3 për 30 min secila. Më tej janë futur dy herë në benzol për 30 dhe 10 min secila, më pas janë zhytur në parafinë ose paraplast.

- ***Prerja në mikrotom***

Prerjet janë bërë me trashësi 10µm, në mikrotom rotator që më pas thahen në 60°.

- ***Ngjyrimi***

Më së fundi prerjet janë ngjyrosur me ngjyrosje dyfishe me Safranin-Fast Green (Jensen, 1962) ose toluidinë blu (O'Brien *et al*., 1965), për detektimin e meristemoideve (Altamura *et al*., 1991).

b- Përgatitja e prepareteve me teknikën e shtypjes:

Teknika që u përdor ishte ajo e fiksimit në alkool 70^0 të pjesëve të gjetheve, sytheve, ngjyrosja në orseinë acetike dhe hidroliza me anë të nxehjes dhe trajtimit enzimatik të dyfishtë me (celulazë+ pektinazë), (2g pluhur celulazë+ pektinazë e tretim në 100 ml H_2O).

❖ **Metoda e studimit të karaktereve epidermale**

Në bimët e rritura *in vitro* dhe të konservuara janë krahasuar midis tyre për këto karaktere epidermalë:

- dëndësia stomatale për njësi të sipërfaqes gjethore (mm^2);
- gjatësia dhe gjerësia e gojëzave;
- tipi i gojëzave;
- lloji i trikomave;

Procesi i numërimit dhe i matjes së gojëzave është realizuar me objektiv 40x për fushë mikroskopike (Fig. 2.3.4) dhe vëzhgimi i llojit të trikomave është realizuar me objektiv 10x. Nga matja me objektiv mikrometër 0.01 mm (10 μm) rezulton se diametri i fushës mikroskopike me zmadhim 40x e mikroskopit Olympus është 0.44 mm (r = 0.22 mm). Bazuar në formulën e llogaritjes së sipërfaqes së rrethit rezulton se sipërfaqja e fushës mikroskopike me objektiv 40x e mikroskopit Olympus është:

$$\mathbf{S = \pi\ r^2 = 3.14\ x\ 0.22^2 = 0.152\ mm^2}$$

Janë numëruar gojëzat për fushë mikroskopike (S = 0.152 mm^2) dhe prej këtej është njehsuar dendësia stomatale/mm^2.

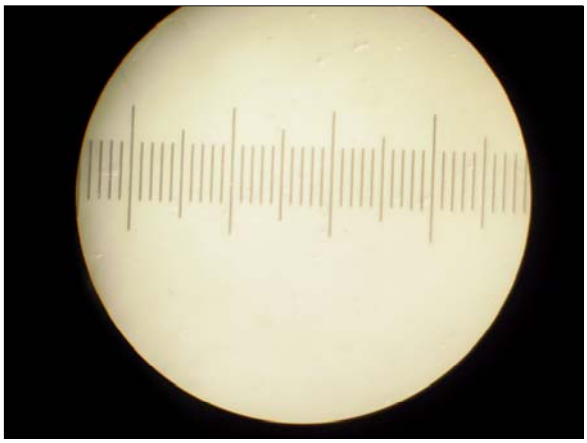


Figura 2.3.4. Foto me objektiv mikrometër e fushës mikroskopike me objektiv 40x.

Teknika që është përdorur është teknika e thjeshtë e shkëputjes së epidermës së poshtme dhe të sipërme të gjethes. Gjethet (e treta ose e katërta nga lart) e bimëve në studim lihen për 60- 90 min në ujë të rrjedhshëm. Më pas janë shkëputur epidermat (e sipërme dhe e poshtme). Këto preparate janë ngjyrosur me jodinë (lugol), pastaj janë vrojtuar dhe fotografuar në mikroskop Olympus dhe janë fotografuar me aparat fotografik Olympus. Të gjitha matjet janë përpunuar në program kompjuterik Microgliciel dhe Fotoshop.

Për secilin variant janë përgatitur të paktën 5 gjethe me nga 5 fusha mikroskopike tek secila. Në total janë vrojtuar dhe matur 25 fusha mikroskopike për bimët e rritura *in vitro* dhe të konservuara. Si bazë për përcaktimin e tipit të gojëzave u përdor skema e klasifikimit stomatal (Freire *et al.,* 2007; Zekaj *et al.,* 2007; Giuiano.2000; Wilkinson. 1979; Barroso, 1976; Dilcher, 1974; Claessens *et al.,* 1973).

2.3.4. Përpunimi statistikor i të dhënave

Për përpunimin statistikor të të dhënave të vrojtuara u përdor programi Excel dhe programi JMP 7.0. Për nxjerrjen e përfundimeve dhe konkluzioneve statistikore për vlerësimin e parametrave dhe krahasimin midis të dhënave janë përdorur ANOVA Fit y by x, bivariate polinomiale e shkallës së dytë dhe të tretë në softuer-in JMP7. Rezultatet janë paraqitur me anë të grafikëve dhe tabelave përmbledhëse që mundëson softuer-i i mësipërm. Për kontrollin e hipotezave, në këtë model është përdorur Student's t-distribution me një nivel sinjifikativ 0,05.

Analiza e shpërndarjeve probabilitare të të dhënave është bërë me anë të metodës Distributions të softuer-it JMP 7.0. për të cilën vlerësimi intervalor i probabiliteteve realizohet me anë të metodës two-sides chi-square test me probabilitet mbulimi $1-\alpha=0.95$.

KAPITULLI III

REZULTATE DHE DISKUTIME

3.1. Kushtet e rritjes së *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja dhe subsp. *albanicus*

Bimët e habitatit të Divjakës dhe të Shkopetit (Fig. 3.1.1), të cilat rriten në kushte klimatike tokësore u mbollën në vazo për marrjen e eksplanteve.

a. **b.**

Figura 3.1.1. *Aster albanicus* Degen. Foto: areali i Divjakës (**a**), areali i Shkopetit (**b**).

Kushtet e rritjes së bimëve të habitatit të Divjakës dhe të Shkopetit ndryshojnë (Pasqyra 3.1.1).

Pasqyra 3.1.1. Kushtet e rritjes së *Aster albanicus* Degen: subsp. *paparistoi* Qosja dhe subsp. *albanicus*.

Habitatet	Koordinatat	Lartësia	Shkëmbi (Terreni) mëmë	Ndriçimi	Lagështia	Lulëzimi	Fryti
Divjaka (*Aster albanicus* Degen *paparistoi* Qosja)	N-40^{0}59, 22.1', E-019^0 29, 08.2'	0	mjedis ranor me lagështi	të kufizuar	e mjaftueshme	fillim tetori	akeni qartësisht më i shkurtër se xhufka.
Shkopeti (*Aster albanicus albanicus)*	N-41^0 40,786' E-019^0 50, 823'	380 FE	shkëmbinj ultrabazikë të zhveshur serpentine	të fortë	thatësirë	fillim shtatori	akeni afërsisht aq i gjatë sa xhufka

Tokat serpentinore përgjithësisht janë një mjedis stresues për bimët për shkak të një numri faktorësh edafikë si p sh një raport i ulët Ca/Mg, nivel i ulët i sasisë së elementëve ushqyes kryesorë bimorë, mbajtja e dobët e ujit (Brady *et al*., 2005). Tokat serpentinore janë të cekëta dhe kanë nivel të ulët në lëndë organike. Në bimët që rriten në toka serpentinore janë gjetur disa metale të rënda në përqendrime të larta (Mizuno *et al.,* 2009). Tokat ranore kanë mbajtje të ulët të ujit. Shumica e këtyre tokave janë acide dhe kanë sasi të ulët të lëndës organike (Hoang, 2008).

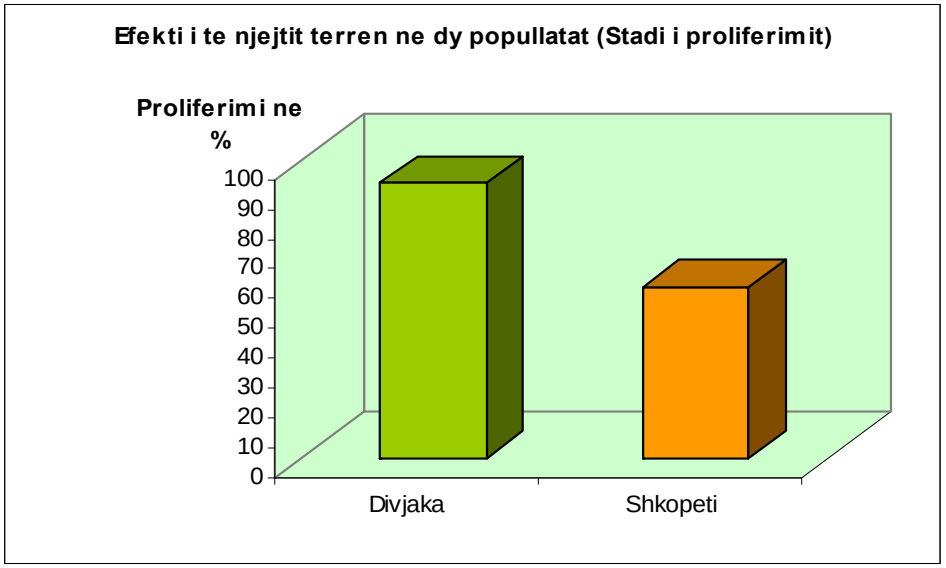
3.2. Organogjeneza e sytheve të *Aster albanicus* Degen: subsp. *paparistoi* Qosja dhe subsp. *albanicus*

Eksplantet e sytheve të majës dhe sytheve anësorë u zhvilluan nëpërmjet organogjenezës direkte. Në rrugën direkte, eksplanti kalon direkt në organogjenezë dhe në formimin e bimës së re (Hartmann & Kester, 1982; Mantell *et al*., 1985).

3.2.1. Stadi i proliferimit

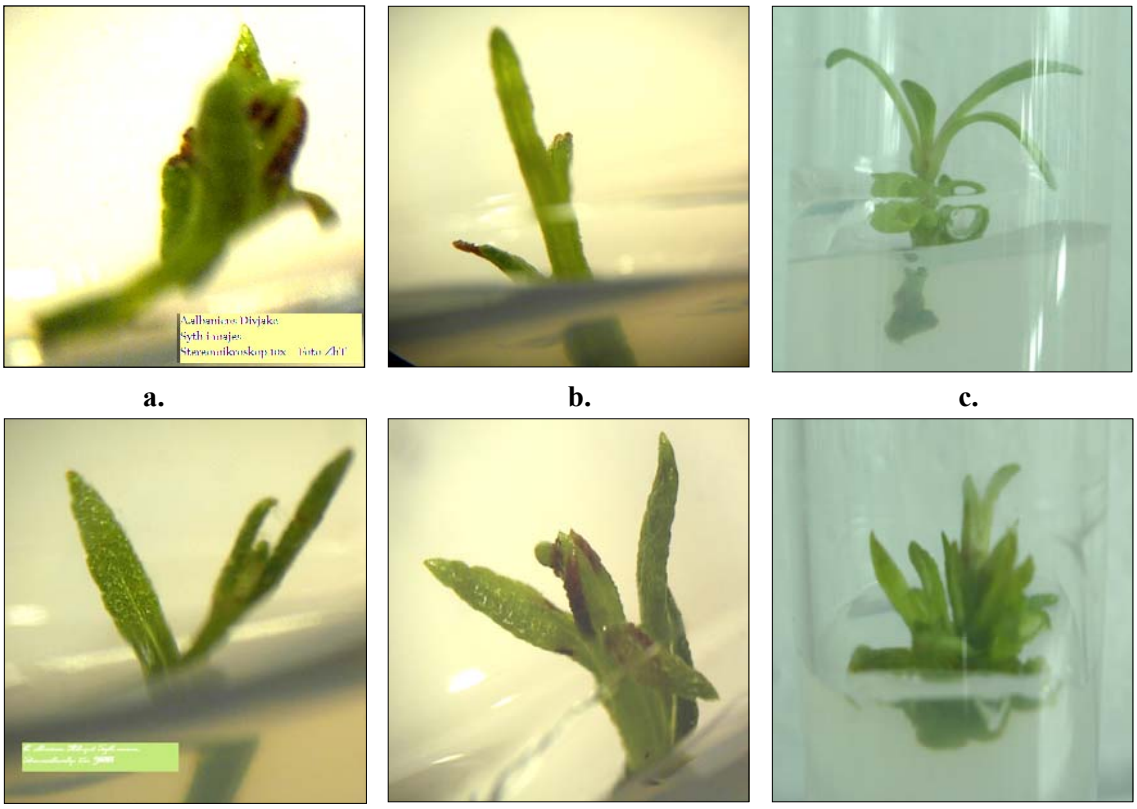
- **Efekti i terrenit ushqyes në dinamikën brenda subspecieve dhe midis tyre**

Në këtë stad janë kultivuar nga 40 eksplante për të dy subspeciet. Eksplantet e sytheve të majës dhe sytheve anësorë janë inokuluar në terrenin e proliferimit. Duket se mjedisi ushqyes i stadit të proliferimit është më optimal për sythet e popullatës së Divjakës, e pasqyruar kjo jo vetëm në zhvillimin e bimëzave, por edhe në indeksin e proliferimit (Grafiku 3.2.1). Bimëzat e popullatës së Divjakës paraqesin përqindje më të lartë të mbijetesës (92.5%) në terrenin ushqyes të përdorur në krahasim me bimëzat e popullatës së Shkopetit (57.5%). Për popullatën e Divjakës nga autorë të tjerë (Kongjika *et al*., 2004) është raportuar rezultat analog në lidhje me përqindje e mbijetesës 95.5%.



Grafiku 3.2.1. Krahasimi i efektit të terrenit ushqyes të stadit të proliferimit në reagimin e eksplanteve të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen.

Nga sythet zhvillohen struktura vezake të gjelbra, të cilat pas 16 ditësh të inokulimit të sytheve shfaqin struktura fillestare të sytheve të reja me dy gjethëza për *Aster albanicus* subsp. *paparistoi* Qosja dhe me katër gjethëza për *Aster albanicus albanicus* (Fig. 3.2.1. a dhe d) (Grafiku 2). Eksplantet e sytheve anësore dhe të majës në të dy subspeciet e kultivuara *in vitro* zhvillohen në rrugën e organogjenezës direkte duke formuar pas 30 ditësh bimëza të reja (Fig. 3.2.1. c dhe f). Në fund të stadit të proliferimit vihet re se bimëzat e popullatës së Divjakës arrijnë në lartësi mesatare deri 5.2 cm dhe 6 gjethe të reja, kurse bimëzat e popullatës së Shkopetit kanë lartësi mesatare deri 2.5 cm dhe 11 gjethe të reja (Grafiku 3.2.2. dhe 3.2.3.).



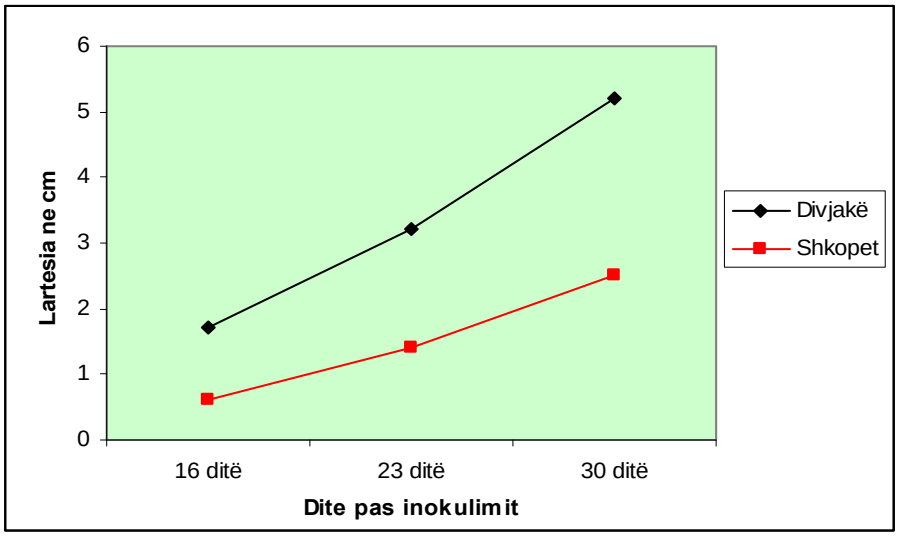
a. **b.** **c.**

d. **e.** **f.**

Figura 3.2.1. Organogjeneza direkte e sytheve të *Aster albanicus* Degen subsp.*paparistoi* Qosja Divjakë: (**a**) syth i majës , (**b**) syth anësor, (**c**) Bimëza me 6 gjethe dhe organogjeneza direkte e sytheve të *Aster albanicus* Degen subsp.*albanicus* Shkopet: (**d**) syth i majës, (**e**) syth anësor), (**f**) bimëza me 11 gjethe. Stereomikroskop 10x dhe aparat dixhital Olympus.

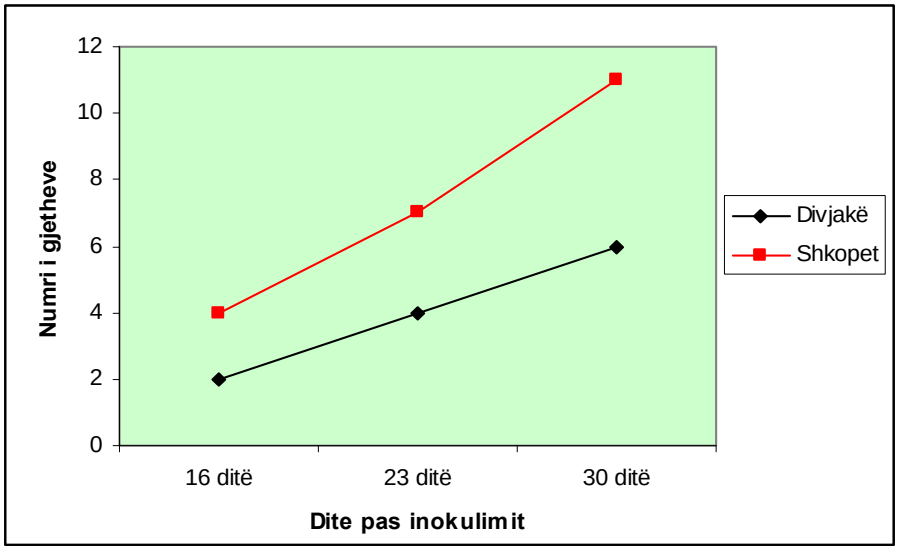
Në grafikët 3.2.2 dhe 3.2.3 është bërë krahasimi i parametrave biometrikë (lartësia e bimëzave dhe numri i gjetheve). Këta parametra janë matur gjatë dinamikës së zhvillimit të dy popullatave në kulturë *in vitro,* në të njëjtat ditë pas inokulimit të sytheve.

Në grafikun 3.2.2. duket qartë që bimëzat e popullatës së Divjakës shfaqin ecuri më të mirë në lartësi (5.2 cm) sesa bimëzat e popullatës së Shkopetit (2.5 cm).



Grafiku 3.2.2. Krahasimi i dinamikës së lartësisë së bimëzave *in vitro* të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen.

Në grafikun 3.2.3. ndodh e kundërta, bimëzat e popullatës së Shkopetit shfaqin ecuri më të mirë në numrin e gjetheve (11 gjethe të reja) sesa bimëzat e popullatës së Divjakës (6 gjethe të reja).



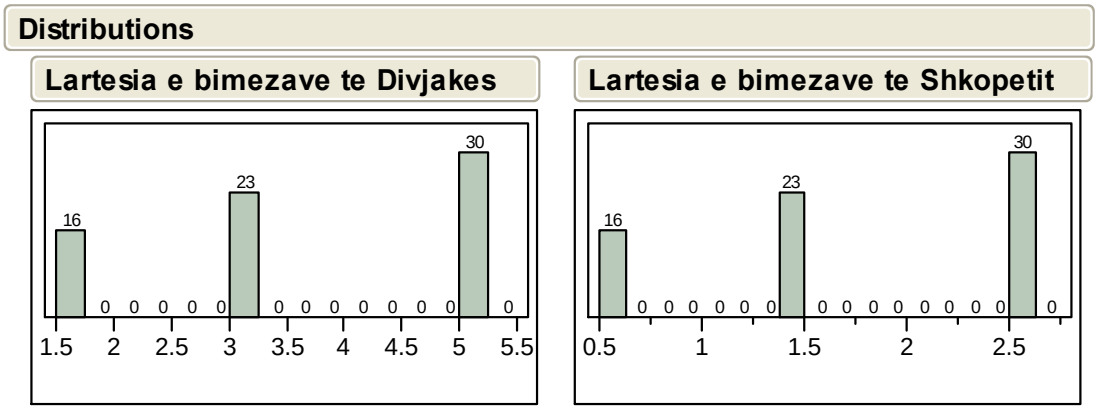
Grafiku 3.2.3. Krahasimi i dinamikës së formimit të gjetheve të bimëzave *in vitro* të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen.

Sipas Toldi *et al*., (2006), terreni ushqyes MS përmban sasi të lartë të elementeve. Në këtë studim është përdorur terreni MS/2 për eksplantet e të dy subspecieve në stadin e proliferimit. Ky terren me rregullatorët e rritjes të llojit të auksinës ANA dhe giberelinës GA_3, është përdorur edhe për bimë të tjera si karafili, kiwi (Çaushi *et al.*, 2003),

(Kongjika *et al*., 2003). Prania e auksinës ANA çon në fillimin e formimit të organeve të reja, kurse prania e acidit giberelik GA_3 ndikon në diferencimin dhe zgjatjen e organeve të reja dhe formimin e shpejtë të bimëzave (Kongjika *et al*., 2004). Megjithatë në shumë raste, proliferimi dhe zgjatja e sytheve kërkon kombinimin e citokininës BAP me një auksinë (Rodriguez *et al*., 1993; Scarpa *et al*., 2000; Damiano *et al.,* 2008), ku citokinina BAP përdoret në përqendrim 10 herë më të lartë se auksina ANA (0.1mg•l^{-1} ANA, 0.1mg•l^{-1} GA_3 dhe 1mg•l^{-1} BAP).

- **Përpunimi statistikor**

Nga parametrat e përpunimit statistikor të lartësisë mesatare të bimëzave në tre stade vrojtimi (Grafiku 3.2.4), shihet qartë se bimëzat kanë një zhvillim të ndryshëm për sa i përket lartësisë së tyre në të njëjtin terren ushqyes. Kështu, bimëzat e popullatës së Divjakës (*Aster albanicus* Degen subsp.*paparistoi* Qosja) në çdo moment vrojtimi kanë arritur një lartësi mesatare pothuajse dyfish nga lartësia mesatare e bimëzave të popullatës së Shkopetit (*Aster albanicus* Degen subsp.*albanicus*), me një deviacion standard të nivelit 8.3 për popullatën e Divjakës kundrejt një deviacioni standard të nivelit 4.5 të asaj të Shkopetit.

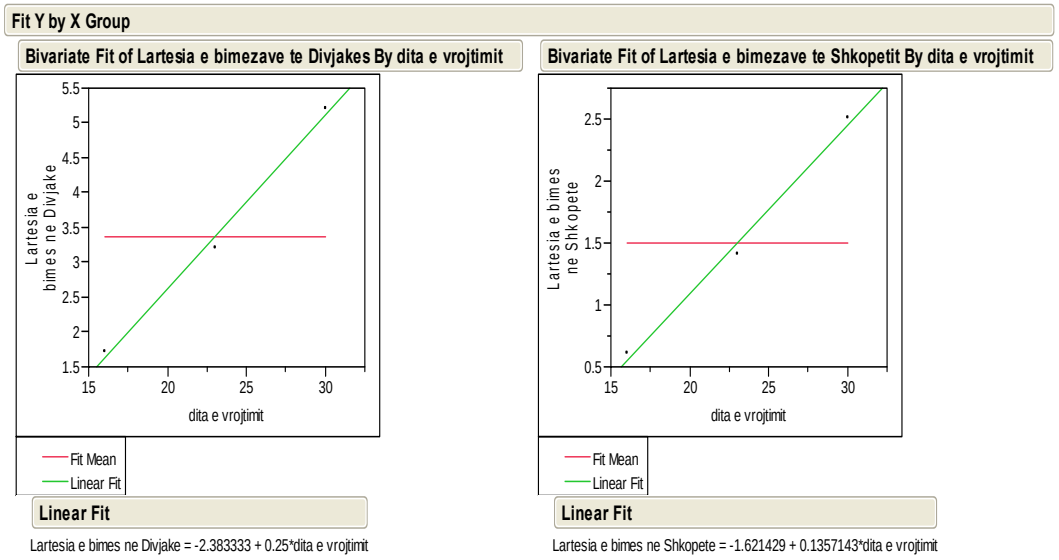


Moments	
Mean	3.7217391
Std Dev	8.2830366
Std Err Mean	0.9971604
upper 95% Mean	8.0121742
low er 95% Mean	-0.568696
N	3

Moments	
Mean	1.6927536
Std Dev	4.5070155
Std Err Mean	0.5425809
upper 95% Mean	4.0272908
low er 95% Mean	-0.641784
N	3

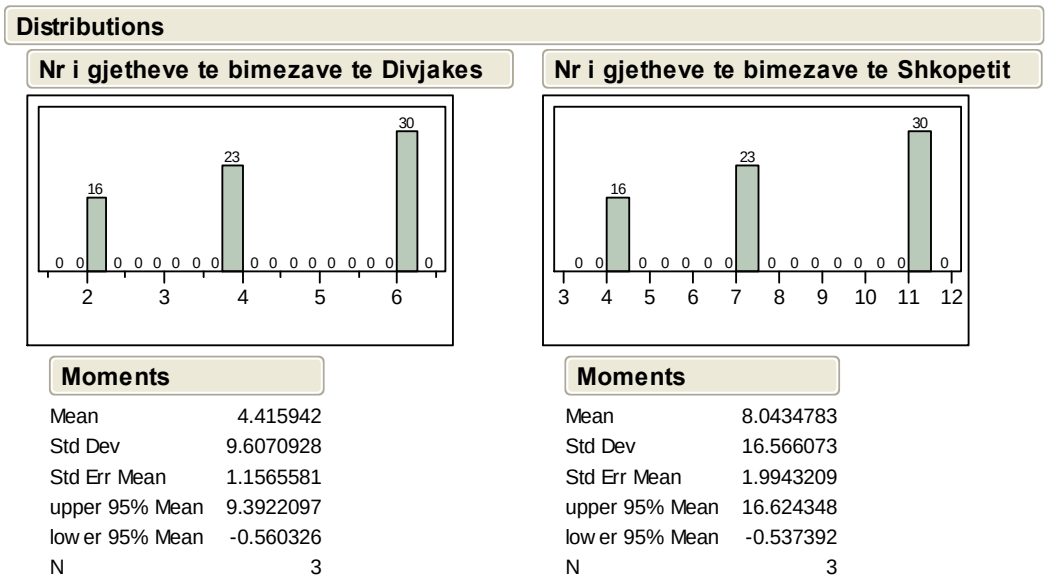
Grafiku 3.2.4. Shpërndarja e lartësisë në cm së bimëzave *in vitro* të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen.

Në grafikun 3.2.5 paraqiten grafikisht varësitë lineare të zhvillimit në lartësi të bimëzave në dy popullatat e ndryshme (Divjakë dhe Shkopet). Duke trajtuar të dhënat e vrojtuara me anë të programit JMP7, përftojmë ekuacionet probabilitare të varësisë lineare të lartësisë së bimëzave nga koha e trajtimit (në ditë) për secilën popullatë.



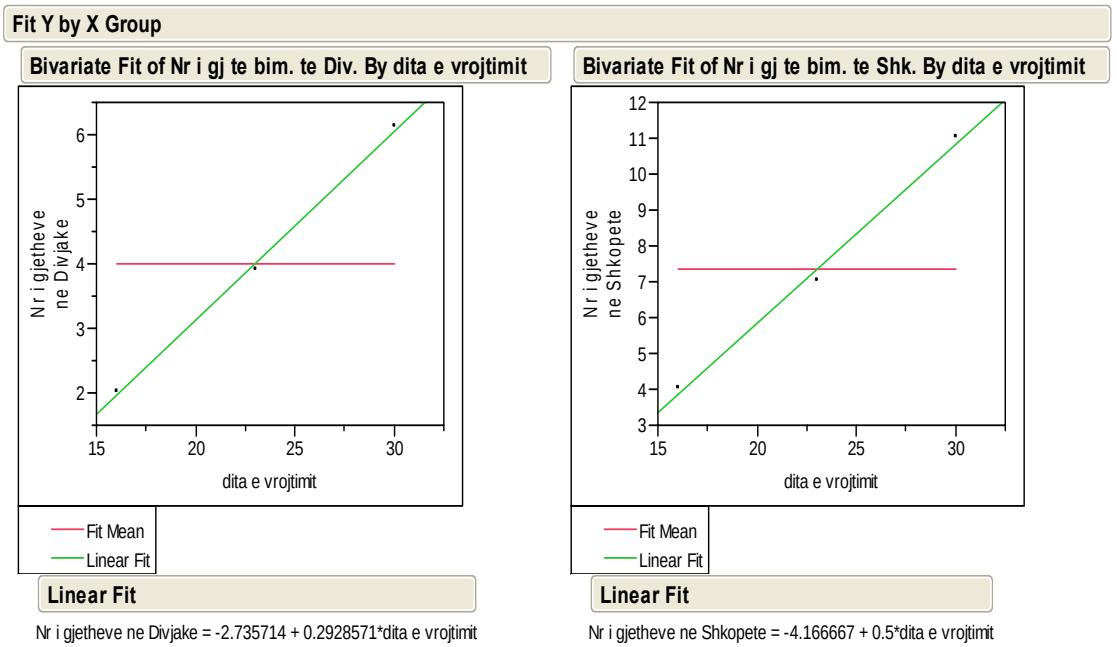
Grafiku 3.2.5. Varësia lineare e lartësisë së bimëzave *in vitro* të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen nga koha.

E njëjta situatë paraqitet edhe në studimin e mostrave për vlerësimin e numrit të gjetheve në periudha të njëjta kohore për dy popullatat e vrojtuara. Ajo që bie në sy nga grafiku 3.2.6. dhe nga karakteristikat deskriptive të vlerave të vrojtuara është se në bimëzat e popullatës së Shkopetit kemi një shtim më të përshpejtuar të numrit të gjetheve në krahasim me bimëzat e popullatës së Divjakës gjatë gjithë periudhës së trajtimit. Në pasqyrën sqaruese të grafikut 3.2.6 vihet re se mesatarja e numrit të gjetheve të popullatës së Shkopetit është gati dy herë më e madhe se mesatarja e numrit të gjetheve të bimëzave të popullatës së Divjakës në të gjitha stadet e zhvillimit të bimëzave. Deviacionet standarde janë përkatësisht 9.6 njësi për popullatën e Divjakës dhe 16.5 për popullatën e Shkopetit.



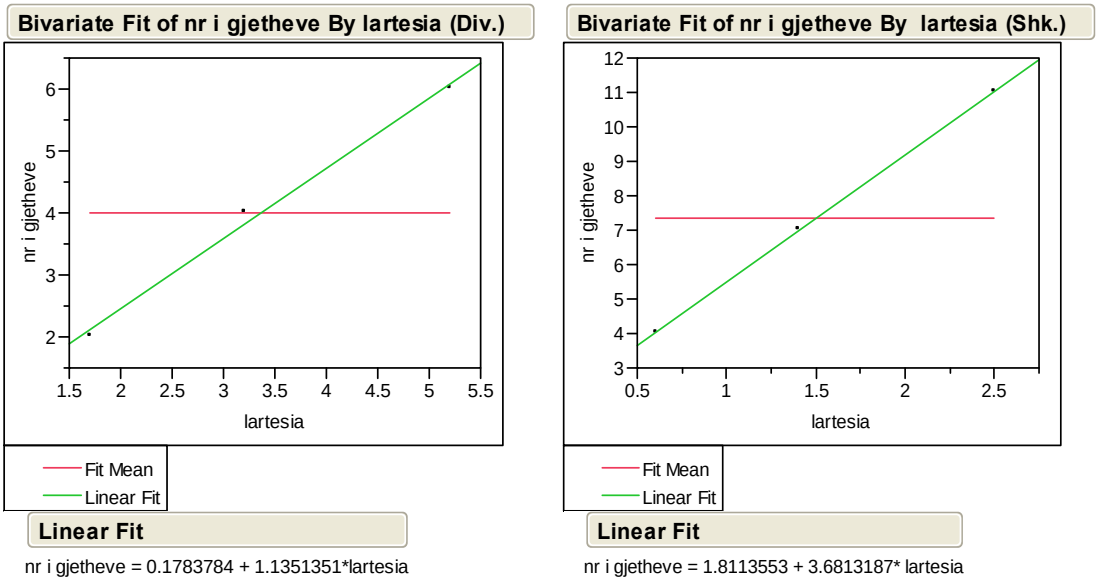
Grafiku 3.2.6. Shpërndarja e numrit të gjetheve të bimëzave *in vitro* të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen.

Ekuacionet e varësisë lineare të numrit të gjetheve nga koha (në ditë) për të dy popullatat paraqiten në pasqyrën shpjeguese të grafikut 3.2.7. Aty shihet qartë se bimëzat e popullatës së Shkopetit, që në stadin e parë të vrojtimit (dita e pesëmbëdhjetë), kanë një epërsi të nivelit dy herë më të madhe për sa i përket numrit të gjetheve nga popullsia e Divjakës. Kjo epërsi ruhet pothuajse konstante deri në fund të eksperimentit. Ajo që tërheq vëmendjen në grafikun 3.2.7 është se numri mesatar i gjetheve, në të tri stadet e vrojtimit, për të dy popullatat, është shumë pranë vijës së marrëdhënies lineare të numrit të gjetheve nga koha e zhvillimit të bimëzës.



Grafiku 3.2.7. Varësia lineare e numrit të gjetheve të bimëzave *in vitro* të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen nga dita e vrojtimit.

Duke i trajtuar vrojtimet në trajtë vektoriale në lidhje me kohën (në ditë) të zhvillimit të bimëzave për secilën popullatë, vihet re se ekziston një marrëdhënie e mirë lineare midis zhvillimit në lartësi të bimëzës dhe numrit të gjetheve të saj (Grafiku 3.2.8). Për popullatën e Divjakës kemi një devijim të vogël të vrojtimit nga ekuacioni linear në mesin e periudhës së zhvillimit të bimëzave, ndërsa për popullatën e Shkopetit, vrojtimet pothuajse përputhen me ekuacionin linear të marrëdhënies midis lartësisë dhe numrit të gjetheve të bimëzave. Një rezultat i rëndësishëm që del nga trajtimi vektorial i këtyre dy veçorive të zhvillimit të bimëzave është se lartësia e bimëzës është në përpjesëtim të zhdrejtë me numrin e gjetheve.



Grafiku 3.2.8. Lidhja midis lartësisë së bimëzës dhe numrit të gjetheve për të dy subspeciet e *Aster albanicus* Degen.

- **Efekti i terrenit ushqyes të ri në dinamikën e *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus***

Pas një muaji bimëzat kalohen në stadin e subkulturës. Gjatë stadit të subkulturës, eksplantet *Aster albanicus albanicus* (popullata e Shkopetit) nuk u zhvilluan, madje pas një jave të gjitha bimëzat shfaqën klorozë të theksuar (Fig. 3.2.2). Në vazhdim të këtij studimi u ndryshua terreni ushqyes në stadin e proliferimit për *Aster albanicus albanicus*, kurse terreni ushqyes në stadin e subkulturës nuk u ndryshua për të dy subspeciet.

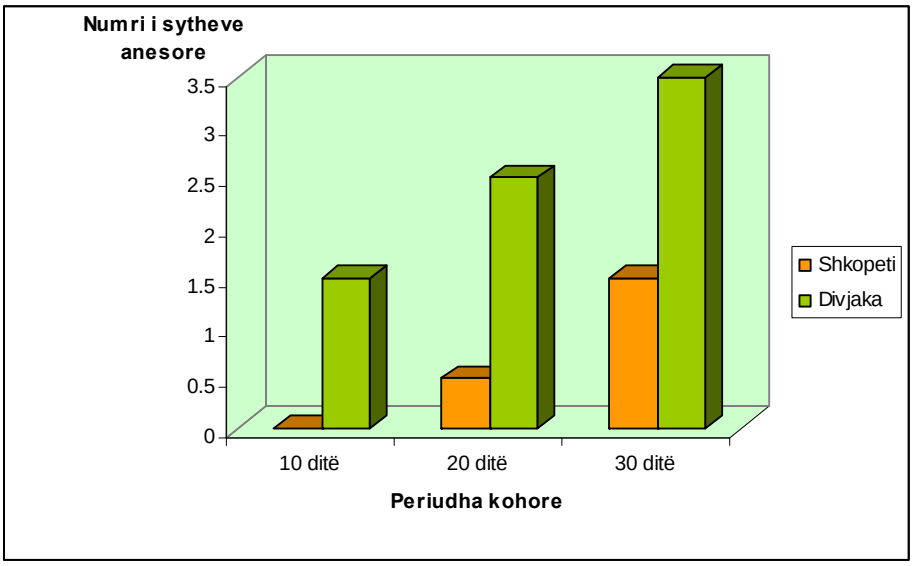
Figura 3.2.2. Bimëza e *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* gjatë subkulturës.

Në stadin e proliferimit janë kultivuar 40 eksplante të sytheve të majës dhe sytheve anësore të popullatës së Shkopetit në terreni ushqyes MS/2 me 0.1mg•l^{-1} ANA (auksinë),

0.1mg•l^{-1} GA_3 (acid giberelik) dhe 1mg•l^{-1} BAP (citokininë) (Kongjika *et al*., 2004; Kongjika *et al*., 2008). Në fund të këtij stadi vihet re se bimëzat e popullatës së Shkopetit kanë lartësi mesatare deri 2.4 cm dhe 9 gjethe të reja. Në terrenin ushqyes (MS/2) me 0.1mg•l^{-1} ANA (auksinë) dhe 0.1mg•l^{-1} GA_3 (acid giberelik), bimëzat kishin lartësi mesatare deri 2.5cm dhe 11 gjethe të reja. Siç vihet re nga matjet morfometrike, numri i gjetheve dhe lartësia e bimëzave, për të dy terrenet ushqyese janë pothuajse të njëjta. Edhe indeksi e proliferimit është i përafërt. Në terrenin e përdorur në fillim ky indeks ishte 57.5%, ndërsa në terrenin ushqyes të ri është 60.5%.

3.2.2. Reagimi i dy subspecieve gjatë stadit të subkulturës

Pas një muaji kultivimi në stadin e proliferimit, bimëzat kalohen në stadin e subkulturës. Kalimi i bimëzave në mjedisin e plotë MS me auksinën ANA dhe citokininën BAP bën që bimëzat të rriten në gjatësi, të formohet një numër i madh gjethesh dhe të prodhohen sythe adventivë sekondarë. Duhet theksuar se raporti citokininë/auksinë është 10:1 në favor të citokininës. Rolin kryesor e luan përqendrimi i lartë në terrenin ushqyes i citokininës BAP që stimulon formimin e një numri të madh sythesh anësorë duke frenuar dominancën apikale (Salisbury *et al.,* 1992; Taiz *et al.,* 2006), kurse nivelet e ulëta të auksinës induktojnë fillimin e rizogjenezës së sytheve të reja (Hartman & Kester, 1982).



Grafiku 3.2.9. Krahasimi i efektit të terrenit ushqyes të stadit të subkulturës në formimin e sytheve anësore në bimëzat *in vitro* të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen.

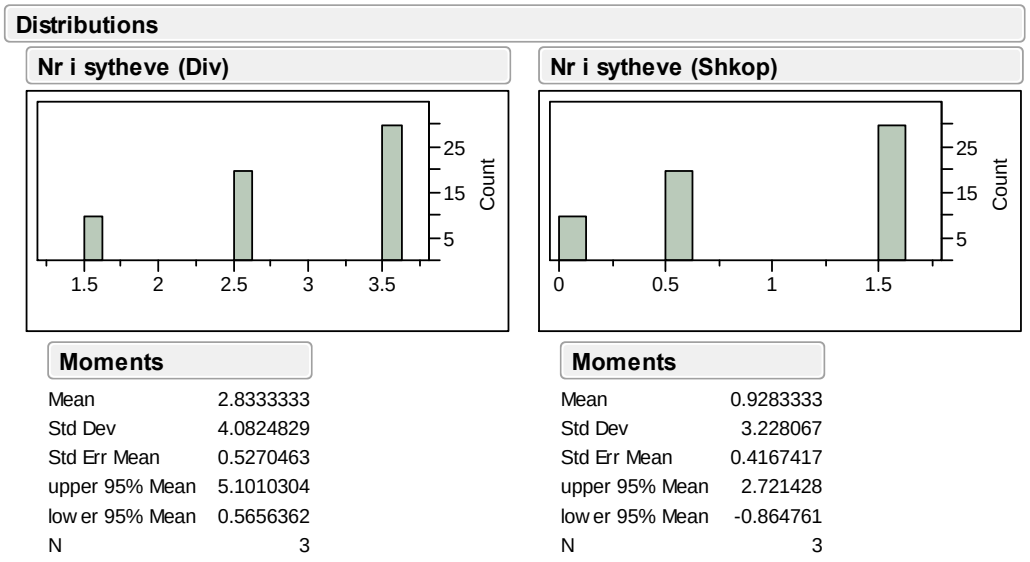
Një tjetër efekt i pranisë së kësaj citokinine është dhe frenimi i formimit të rrënjëve. Vëzhgime të ngjashme për efektin e citokininave në mikroshumimin e shumë specieve bimore janë bërë dhe nga autorë të tjerë (Abbott *et al.,* 1976; Welander, 1985; Muna *et al*., 1999, Saponari *et al.,* 1999; Pruski *et al.,* 2000; Shatnawi *et al.*, 2007; Yildirim *et al.*, 2009). Rritja e bimëzave në lartësi dhe formimi i sytheve anësorë ndikon në koeficientin e mikroshumimit pas subkulturës së parë. Gjatë stadit të subkulturës duket se mjedisi

ushqyes është optimal për bimëzat e popullatës së Divjakës, e pasqyruar kjo jo vetëm në numrin e sytheve anësorë (Grafiku. 3.2.9), por edhe në koeficientin e mikroshumimit. Popullata e Divjakës e ka këtë koeficient më të lartë (1:3.5) sesa popullata e Shkopetit (1:1.5). Rezultate analoge janë raportuar në specie të familjes *Asteraceae* (Jagatheeswari & Ranganathan, 2012). Për popullatën e Divjakës nga autorë të tjerë (Kongjika *et al*., 2004) është raportuar një koeficient i lartë i mikroshumimit (1:7.5).

Në grafikun 3.2.9 duket qartë se në ditën e dhjetë nuk është formuar asnjë syth anësor në bimëzat e popullatës së Shkopetit, kurse bimëzat e popullatës së Divjakës kanë formuar sytha anësorë (1-2). Për popullatën e Shkopetit, formimi i sythave anësorë fillon në ditën e njëzetë të stadit të subkulturës. Në fund të këtij stadi vihet re epërsia e formimit të sythave anësorë në bimëzat e popullatës së Divjakës (3-4), përkundrejt numrit të sythave anësorë në bimëzat e popullatës së Shkopetit (1-2).

- **Përpunimi statistikor**

Vlerësimet statistikore të vrojtimit tregojnë një zhvillim më të lartë të numrit mesatar të sytheve anësore për popullatën e Divjakës. Ky zhvillim është i nivelit gati tre herë më të madh në nivel mesatareje. Në grafikun 3.2.10. dhe pasqyrën sqaruese të rezultateve statistikore për vrojtimin vërehet se pritshmëria e bimëzave të popullatës së Divjakës në lidhje me numrin e sytheve është tre herë më e lartë se pritshmëria për të njëjtin vrojtim në bimëzat e popullatës së Shkopetit. Këto rezultate kanë një deviacion standard të vlerësimit të pothuajse të të njëjtit nivel (4 për Divjakën dhe 3.23 për Shkopetin), gjë që i jep një qëndrueshmëri statistikore rezultatit të nxjerrë.



Moments

Mean	2.8333333
Std Dev	4.0824829
Std Err Mean	0.5270463
upper 95% Mean	5.1010304
low er 95% Mean	0.5656362
N	3

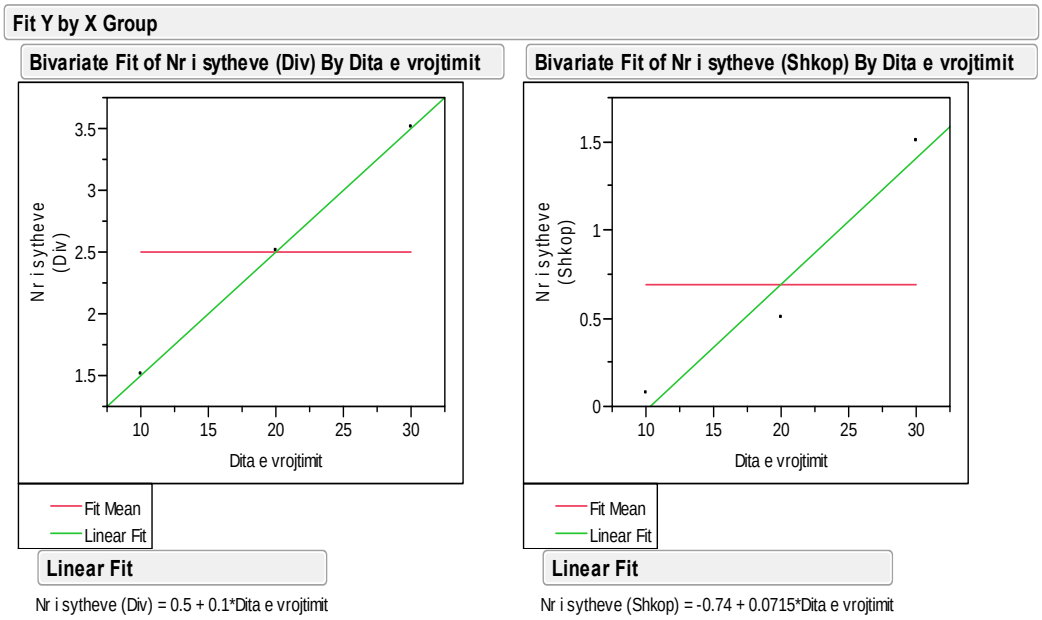
Moments

Mean	0.9283333
Std Dev	3.228067
Std Err Mean	0.4167417
upper 95% Mean	2.721428
low er 95% Mean	-0.864761
N	3

Grafiku 3.2.10. Shpërndarja e numrit të sytheve anësore në bimëzat *in vitro* të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen.

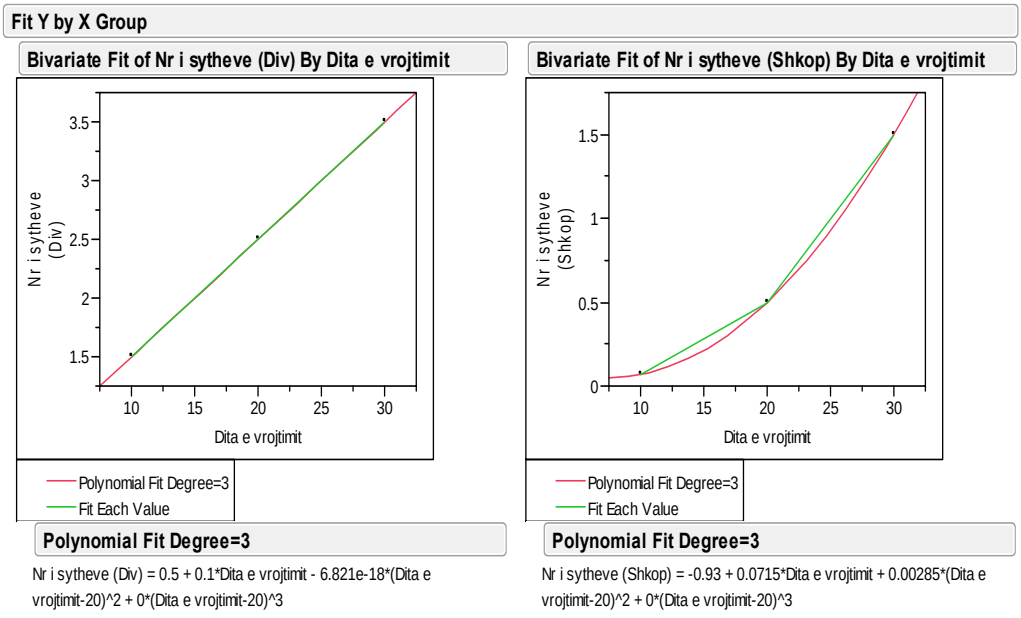
.

Në grafikun 3.2.11. shihet se niveli i zhvillimit të rritjes së numrit të sytheve anësore për popullatën e Divjakës është konstant dhe pothuajse në përputhje të plotë me ekuacionin linear të vrojtimit.



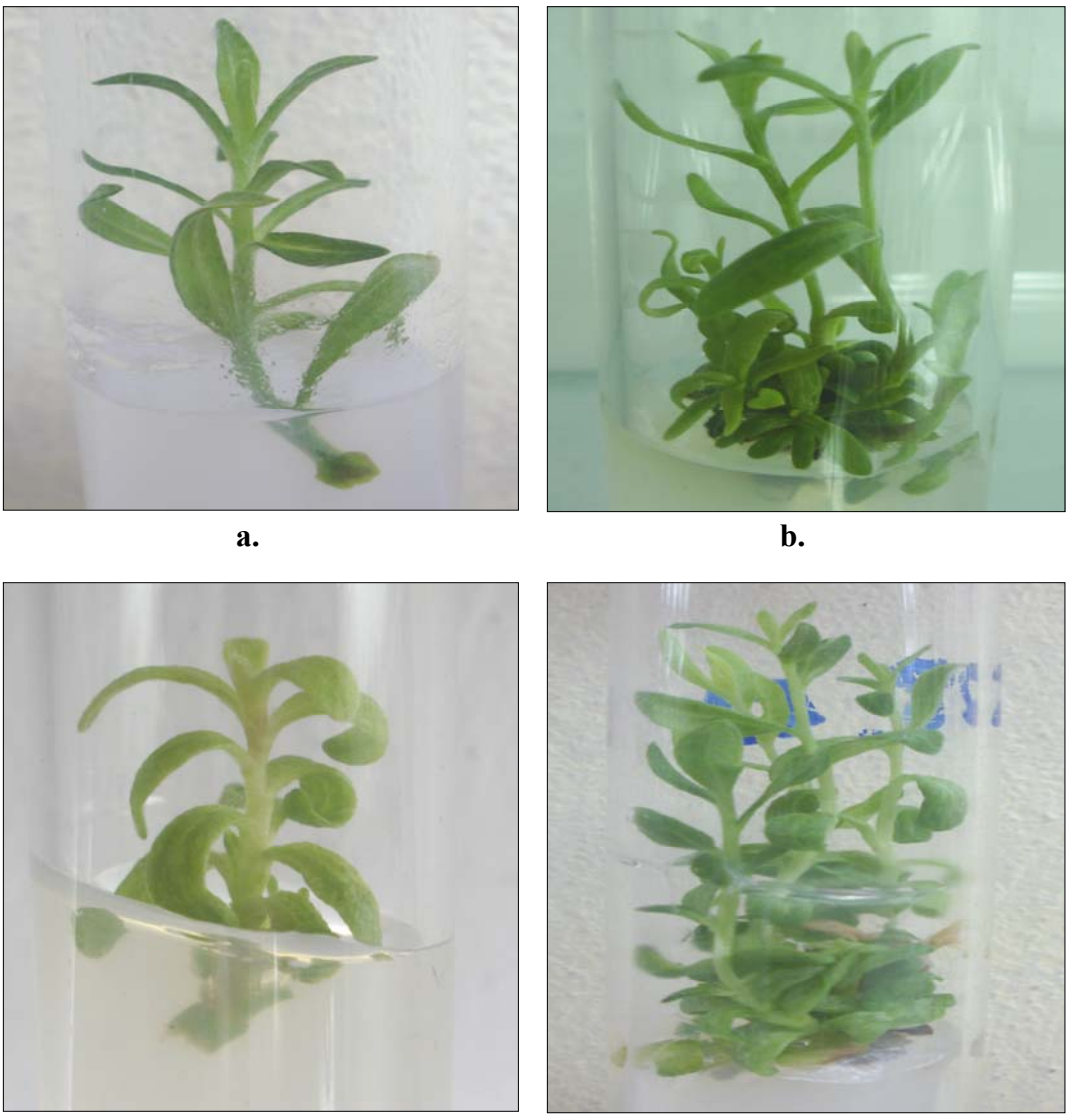
Grafiku 3.2.11. Grafiku i mesatareve dhe i ekuacioneve lineare të zhvillimit të numrit të sytheve anësore në bimëzat *in vitro* të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen.

Në grafikun 3.2.12. vërehet se vrojtimi i popullatës së Divjakës pothuajse ruan varësinë lineare edhe në varësinë polinomiale të shkallës së tretë. Ndërsa për popullatën e Shkopetit realizohet një përputhje më e mirë e rezultateve të vrojtimit me vijën teorike të pritshmërisë.



Grafiku 3.2.12. Grafiku i ekuacioneve polinomiale të zhvillimit të numrit të sytheve anësore në bimëzat *in vitro* të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen.

Për të dy subspeciet e *Aster albanicus* Degen vëmë re se bimëzat e prodhuara në subkulturë gjatë 4 muajve (Fig. 3.2.3.dhe Fig.3.2.4.) janë mikroshumuar dhe fuqizuar si rezultat i përdorimit në terrenin ushqyes të BAP dhe ANA në raportin 10:1. Stadi i subkulturës për bimëzat e fituara nga sythet anësorë dhe të majës paraqiten në Fig.3.2.3 a,c dhe në Fig.3.2.4. a,c. Bimëzat 4-mujore të zhvilluara në kulturë *in vitro* nga sythet anësorë dhe të majës paraqiten në Fig.3.2.3 b,d dhe në Fig.3.2.4. b,d.



a. **b.**

c. **d.**

Figura 3.2.3. Eksplante të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë gjatë subkulturës, bimë të mikroshumuara nga: (**a**) syth anësor dhe (**c**) syth i majës, (**b**) bimëza 4-mujore të zhvilluara nga sythi anësor dhe (**d**) të zhvilluara nga sythi i majës. (Aparat dixhital Olympus, Foto: A.Qendro).

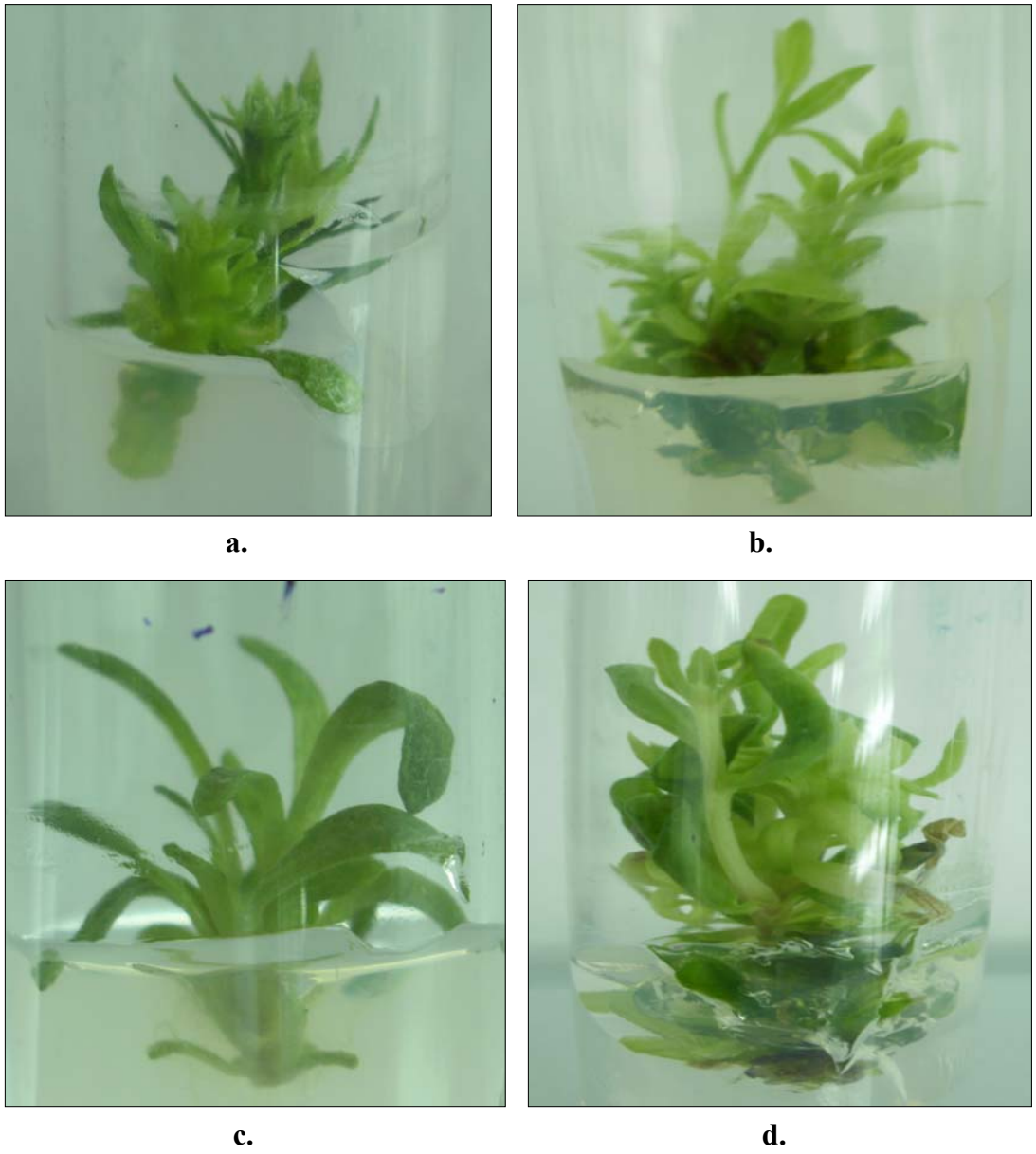
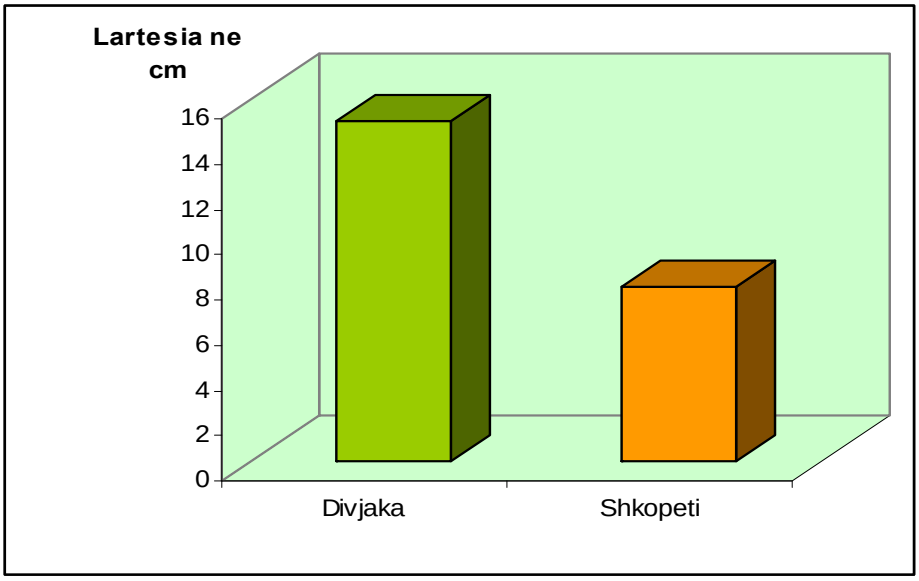


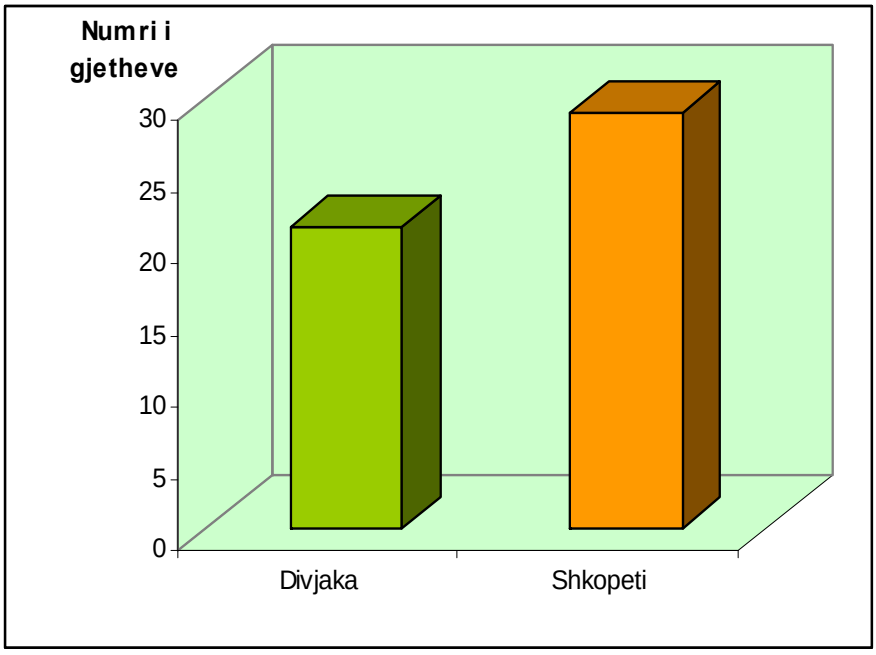
Figura 3.2.4. Eksplante të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet gjatë subkulturës, bimë të mikroshumuara: (**a**) syth anësor dhe (**c**) syth i majës, (**b**) bimëza 4-mujore të zhvilluara nga sythi anësor dhe (**d**) të zhvilluara nga sythi i majës. (Aparat dixhital Olympus, Foto: A.Qendro).

Në fund të stadit të subkulturës vihet re se bimëzat e popullatës së Divjakës kanë lartësi mesatare deri në 15 cm, kurse bimëzat e popullatës së Shkopetit kanë lartësi mesatare deri në 7.7 cm (Grafiku 3.2.13 dhe 3.2.14). Bimëzat e popullatës së Divjakës shfaqin ecuri më të mirë në lartësi sesa bimëzat e popullatës së Shkopetit.



Grafiku 3.2.13. Krahasimi i efektit të terrenit ushqyes të stadit të subkulturës në lartësinë e bimëzave *in vitro* të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen.

Në fund të këtij stadit vihet re se bimëzat e popullatës së Divjakës kanë 21 gjethe të zhvilluara mirë, kurse bimëzat e popullatës së Shkopetit kanë 29 gjethe të zhvilluara mirë (Grafiku 3.2.14). Bimëzat e popullatës së Shkopetit shfaqin ecuri më të mirë në numrin e gjetheve sesa bimëzat e popullatës së Divjakës.

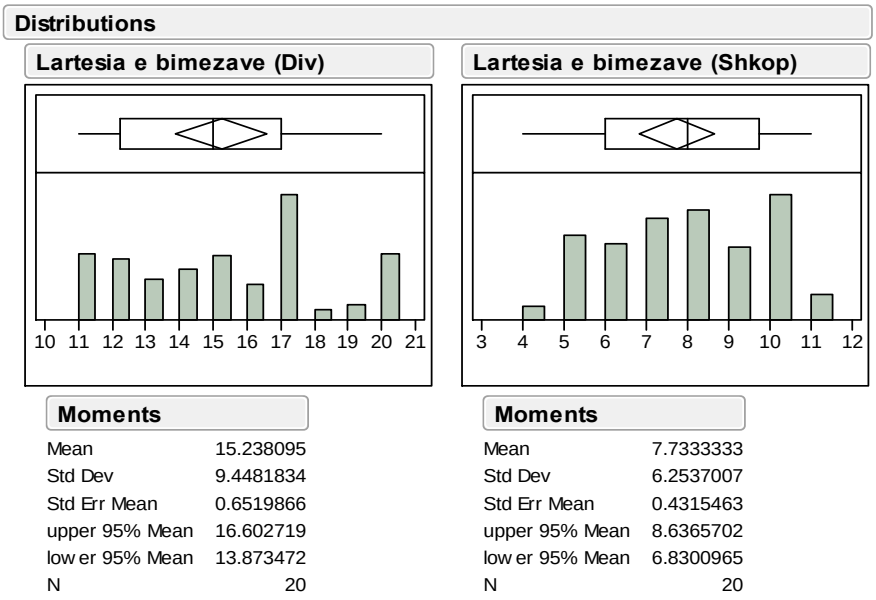


Grafiku 3.2.14. Krahasimi i efektit të terrenit ushqyes të stadit të subkulturës në numrin e gjetheve të bimëzave *in vitro* të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen.

Në stadin e subkulturës (Grafiku 3.2.13 dhe 3.2.14) vihet re e njëjta rritje proporcionale e bimëzave ashtu si në stadin e proliferimit (Grafiku 3.2.2 dhe 3.2.3). Konkretisht, bimëzat e popullsisë së Divjakës janë më të larta dhe me më pak numër gjethesh, ndërsa bimëzat e popullsisë së Shkopetit janë më të shkurtra dhe me më shumë numër gjethesh.

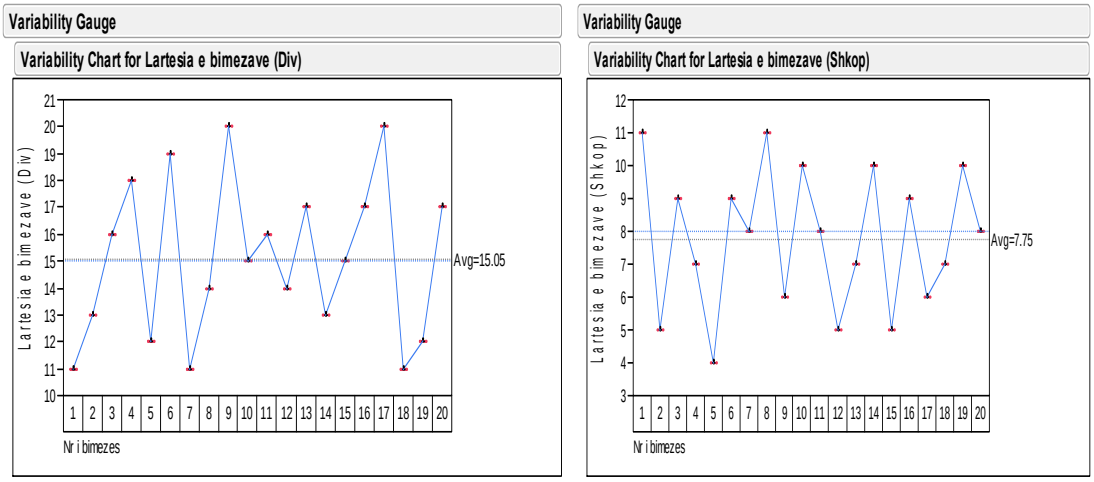
- **Përpunimi statistikor**

Nga parametrat e përpunimit statistikor shihet qartë që bimëzat zhvillohen në lartësi të ndryshme në dy popullatat e vrojtuara (Grafiku 3.2.15). Kështu, në popullatën e Divjakës vrojtojmë një mesatare të nivelit 15.2 cm me një interval 95% të nivelit (13.9; 16.6), ndërsa në atë të Shkopetit mesatarja e vrojtuar është e nivelit 7.7 cm me një interval 95% të nivelit (6.8; 8.6). Lartësia më e ulët e vrojtuar për bimëzën e Divjakës është 11 cm dhe më larta është 20 cm. Ndërsa për popullatën e Shkopetit është më e ulëta (4 cm) dhe më e larta vetëm 11. Të dhënat tregojnë që zhvillimi i lartësisë në bimëzat e të dy popullatave është një dukuri e qëndrueshme biologjike. P.sh nga të dhënat e mësipërme, lartësia maksimale e vrojtuar në popullatën e Shkopetit është disa njësi më e vogël nga mesatarja e lartësisë së bimëzave të Divjakës (11<15.2).



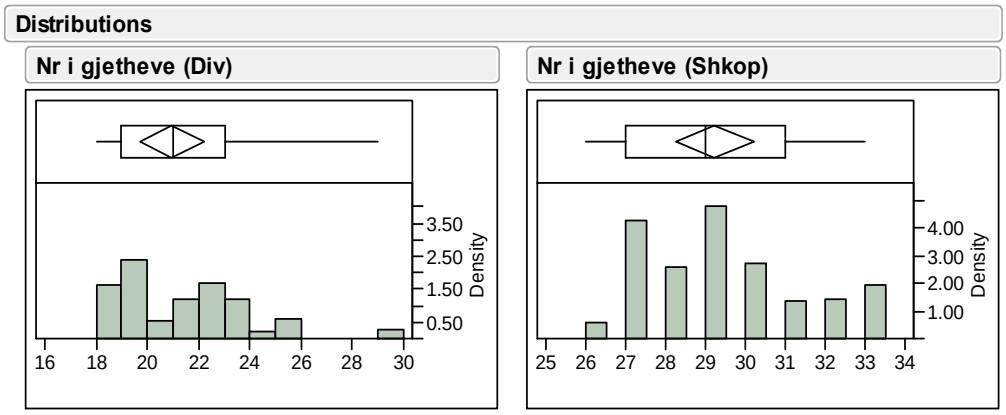
Grafiku 3.2.15. Shpërndarja e lartësisë së bimëzave *in vitro* të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen.

Nga Grafiku 3.2.16 shihet më qartë përqendrimi dhe vlerat e vrojtuara në lidhje me medianën dhe mesataren. Ajo që bie në sy është një përputhje e parametrave vlerësues të vrojtimit për popullimin e Divjakës, edhe pse kemi një amplitudë më të lartë vrojtimi. Ndërkohë që në popullatën e Shkopetit, mediana dhe mesatarja nuk përputhen edhe pse me një amplitudë më të vogël vrojtimi. Për qëndrueshmërinë e zhvillimit të ndryshëm në lartësi të bimëzave për popullatat e vrojtuara, ky nuk është një dukuri negative. Më tepër, kjo ka të bëj me normalitetin e shpërndarjes së bimëzave në popullatat e marra veç e veç. Shpërndarja e veçorisë së lartësisë në popullatën e Divjakës ka një normalitet më të mirë.



Grafiku 3.2.16. Shpërndarja e vrojtimit të lartësisë së bimëzave *in vitro* të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen rreth medianës dhe mesatares.

Grafiku 3.2.17 tregon për një epërsi të dukshme të zhvillimit të numrit të gjetheve në popullatën e Shkopetit përkundrejt asaj të Divjakës, qoftë duke i krahasuar me anë të mesatares (Mean), e cila ndryshon me gati 8 njësi, qoftë duke i krahasuar me anë të intervaleve vlerësuese 95%, për të cilët shihet qartë se jo vetëm që nuk kanë mbivendosje vlerash, por pothuajse ruajnë diferencën e mesatareve (7 njësi). Në qoftë se do të bënim një studim më të hollësishëm të përqendrimit të vrojtimit për popullatën e Divjakës, do të dukej që kemi një rritje fiktive të vlerës së mesatares për këtë popullim, e cila vjen si rezultat i vrojtimit të bimëzës me numër gjethesh 29, një vlerë kjo që është shumë larg mesatares së vrojtuar. Kjo e bën më të qartë cilësinë biologjike të ndryshimit të numrit të gjetheve për të dy popullatat e vrojtuara.



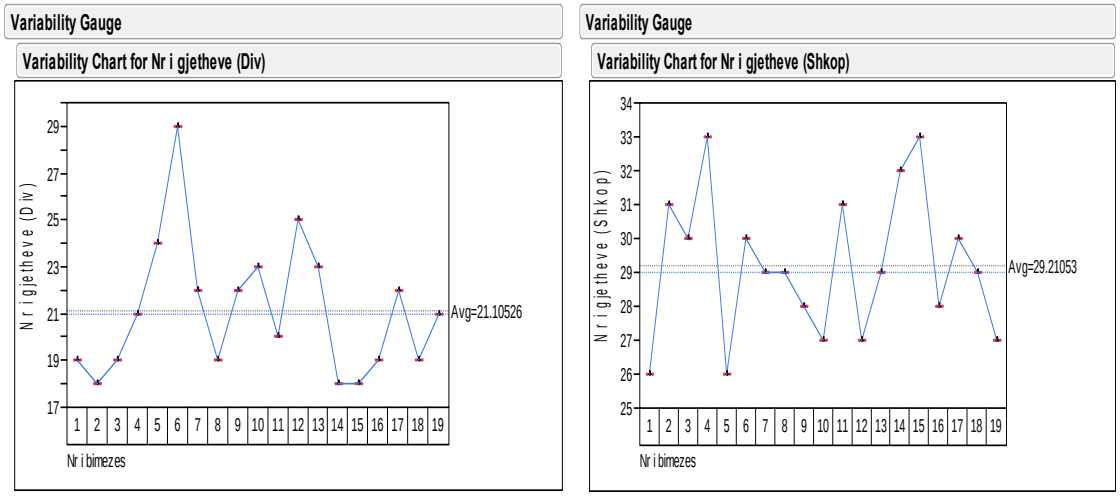
Moments	
Mean	20.968421
Std Dev	8.2320867
Std Err Mean	0.5972183
upper 95% Mean	22.22313
low er 95% Mean	19.713712
N	19

Moments	
Mean	29.236842
Std Dev	6.4132766
Std Err Mean	0.465268
upper 95% Mean	30.214334
low er 95% Mean	28.25935
N	19

Grafiku 3.2.17. Shpërndarja e numrit të gjetheve të vrojtuara në bimëzat *in vitro* të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen.

Grafiku 3.2.18 tregon një përqendrim më të mirë të vlerave të numrit të gjetheve për popullatën e Divjakës në krahasim me atë të popullatës së Shkopetit përkundrejt mesatares dhe medianës së vrojtimit.

Për rastin e Divjakës mund të themi se me përjashtim të një vlere (n=29), të tjerat janë me një shpërhapje më të vogël nga vija teorike e mesatares. Gjithashtu, mediana dhe mesatarja janë në një distancë të vogël nga njëra tjetra, gjë që tregon për një normalitet më të mirë të zhvillimit të numrit të gjetheve për popullatën e Divjakës.



Grafiku 3.2.18. Shpërndarja e vrojtimit të numrit të gjetheve të bimëzave *in vitro* të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen rreth medianës dhe mesatares.

Duke krahasuar të dyja veçoritë, lartësinë e bimëzës dhe zhvillimin e numrit të gjetheve (Grafiku 3.2.16 dhe 3.2.18) shihet se zhvillimi i këtyre dy veçorive për popullatën e Divjakës ka një sjellje më normale për sa i përket shpërndarjes probabilitare të veçorive.

- **Formimi i rrënjës**

Rruga direkte e zhvillimit të eksplanteve në kulturë *in vitro* u realizua edhe nëpërmjet kultivimit të eksplanteve të sytheve të majës dhe sytheve anësore, të cilat u morën nga bimëzat e kultivuara *in vitro*.

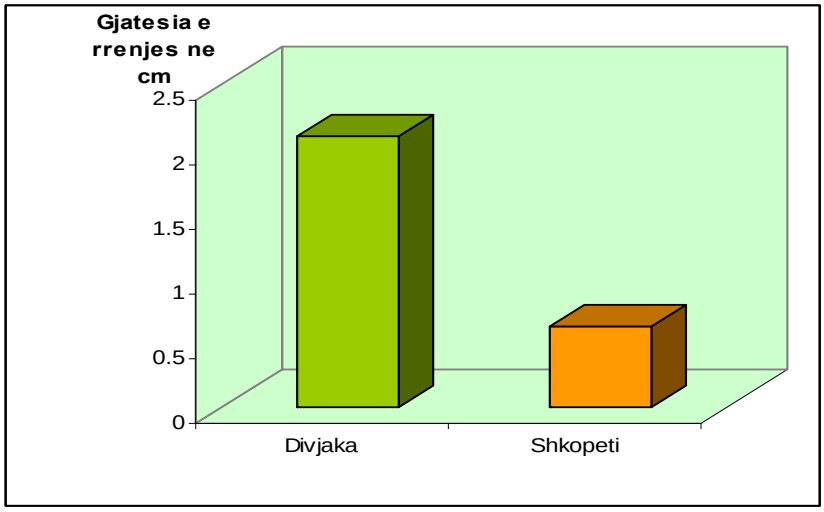
Zhvillimi i bimëzave dhe indeksi i proliferimit gjatë stadit të proliferimit, për të dy popullatat është i njëjtë me rastin kur eksplantet u morën nga bimë të rritura në terren.

Gjatë stadit të subkulturës, prania e hormoneve endogjene ka ndikuar në formimin e shpejtë të një organi tjetër të ri, të rrënjës gjatë rizogjenezës. Për këtë dukuri, prania e auksinës ANA në terrenin ushqyes MS stimulon fillimin e formimit të rrënjëve *in vitro*.

a. **b.**

Figura 3.2.5. Bimëza të rrënjëzuara gjatë stadit të subkulturës të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë (**a**) dhe të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet (**b**).

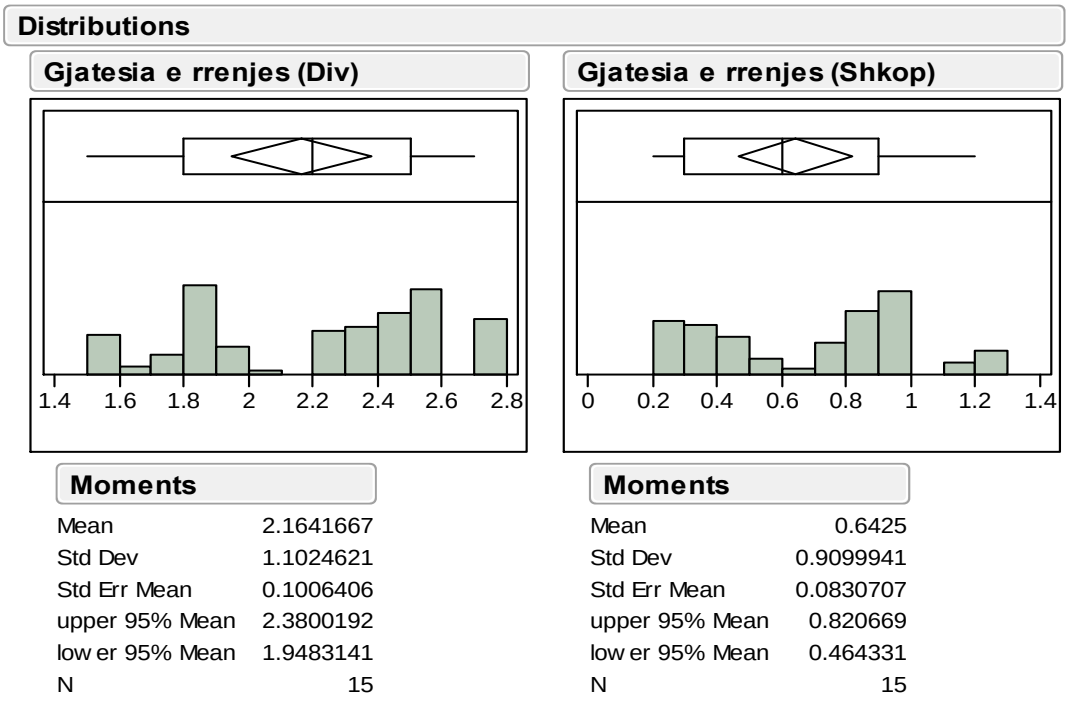
Në grafikun 3.2.19. duket qartë që bimëzat e popullatës së Divjakës shfaqin ecuri më të mirë në gjatësi të rrënjës (2.16 cm), sesa bimëzat e popullatës së Shkopetit (0.64 cm).



Grafiku 3.2.19. Krahasimi i gjatësisë së rrënjës në bimëzat *in vitro* të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen.

- **Përpunimi statistikor**

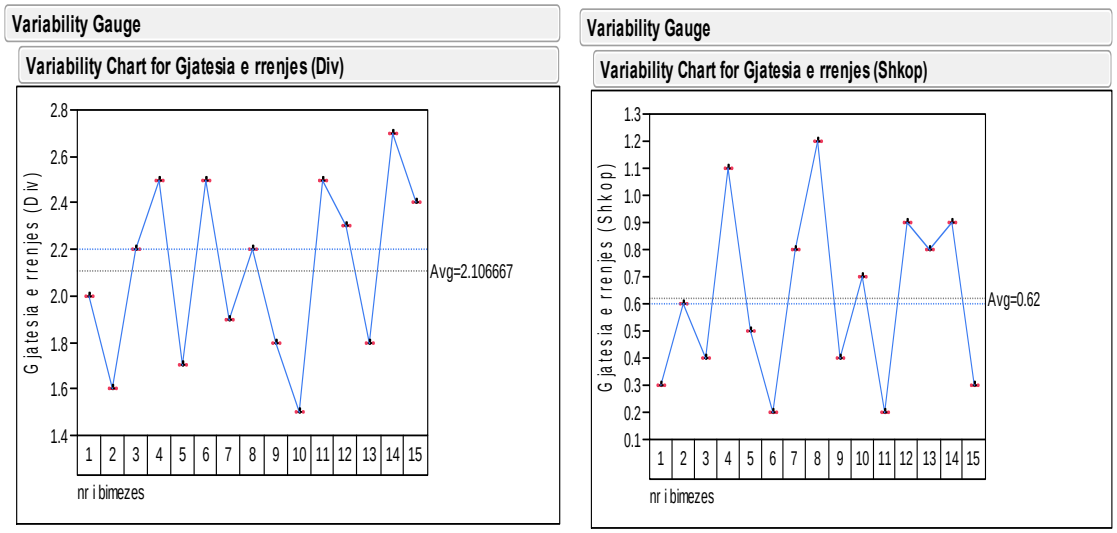
Nga përpunimi statistikor i të dhënave të vrojtuara dhe paraqitja grafike e këtij përpunimi vihet re se bimëzat kanë dukshëm një zhvillim të ndryshëm të gjatësisë së rrënjës për bimëzat e të dy popullatave të vrojtuara. Grafiku 3.2.20 paraqet rezultatet e përpunimit të të dhënave të vrojtuara dhe vihet re një nivel i lartë i zhvillimit të gjatësisë së rrënjëve për bimëzat e popullatës së Divjakës. Duke u bazuar në vrojtimin e dhënë, pritshmëria e zhvillimit të gjatësisë së rrënjës për periudhën kohore të vrojtimit, rezultatet janë: për popullatën e Divjakës, 2.16 cm me një deviacion standard 1.1 dhe për Shkopetin është 0.64 cm me një deviacion standard 0.9.



Grafiku 3.2.20. Shpërndarja e gjatësisë së rrënjës në bimëzat *in vitro* të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen.

Në grafikun 3.2.21 paraqitet krahasueshmëria e mesatares me medianën dhe përqendrimi i vlerave të vrojtuara për bimëzat e të dy popullatave. Vërehet se kemi një diferencë shumë të vogël midis pritshmërisë dhe medianës për popullatën e Divjakës të nivelit 0.1 cm, e cila është rezultat i shpërhapjes së vlerave të vrojtimit. Për popullatën e Shkopetit, ky ndryshim është edhe më i vogël. Ajo që vërehet për të dy vrojtimet është se kemi një shpërhapje të madhe të vlerave të vrojtuara përkundrejt mesatares së pritshme, por duke krahasuar të dy popullatat shihet qartë se vlera maksimale e gjatësisë së rrënjës së vrojtuar në popullatën e Shkopetit është 0.3 cm më e vogël se vlera minimale e vrojtuar në mostrën e trajtuar të popullatës së Divjakës. Kjo tregon qartë që tendenca e zhvillimit

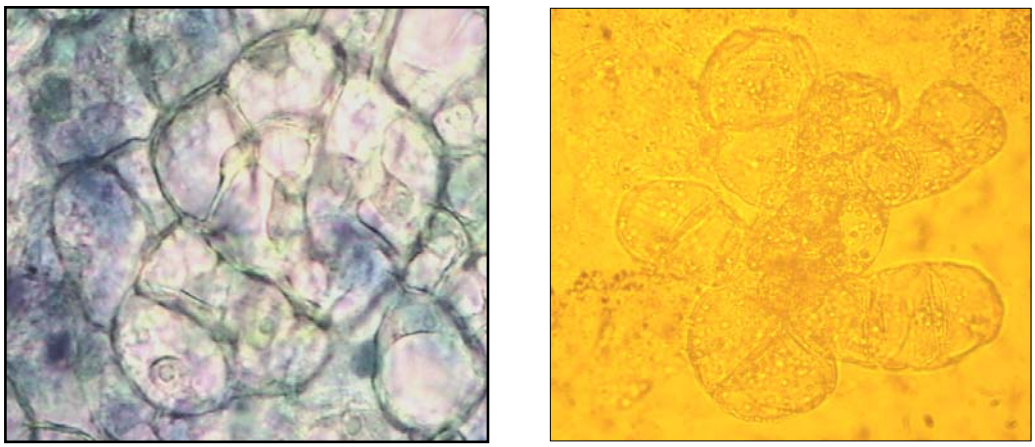
të rrënjës në gjatësi për bimëzat e popullatës së Divjakës, është gati tre herë më e lartë se ajo e bimëzave të popullatës së Shkopetit.



Grafiku 3.2.21. Shpërndarja e vrojtimit për gjatësinë e rrënjës në bimëzat *in vitro* të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen rreth medianës dhe mesatares.

3.2.3. Histogjeneza e eksplanteve të dy subspecieve të kultivuar *in vitro*

Histogjeneza e eksplanteve të kultivuara *in vitro* u studiua si në aspektin makroskopik të paraqitur më sipër ashtu dhe në aspektin mikroskopik. Për të dyja subspeciet e *Aster albanicus* Degen në eksplantet e sytheve vihen re qartë struktura vezake , të cilat pas 16 ditësh të inokulimit të sytheve shfaqin struktura fillestare të sytheve të reja, të cilat do të zhvillohen në rrugën e organogjenezës direkte duke formuar pas 30 ditësh bimëza të reja.



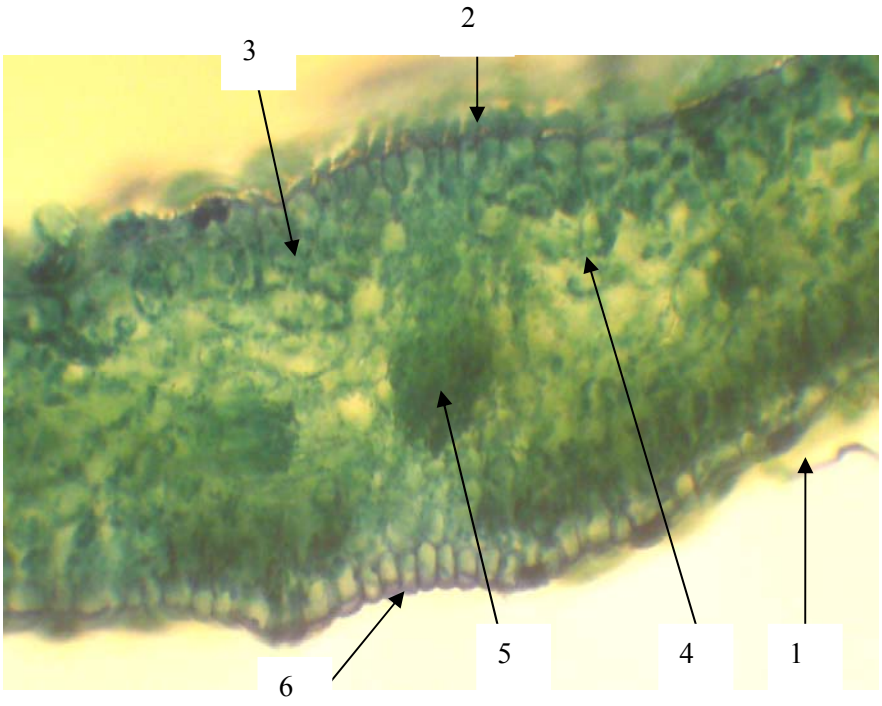
a. **b.**

Figura 3.2.6. Strukturat vezake tek eksplantet syth të *Aster albanicus* Degen subsp.*paparistoi* Qosja Divjakë (**a**) dhe të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet (**b**).

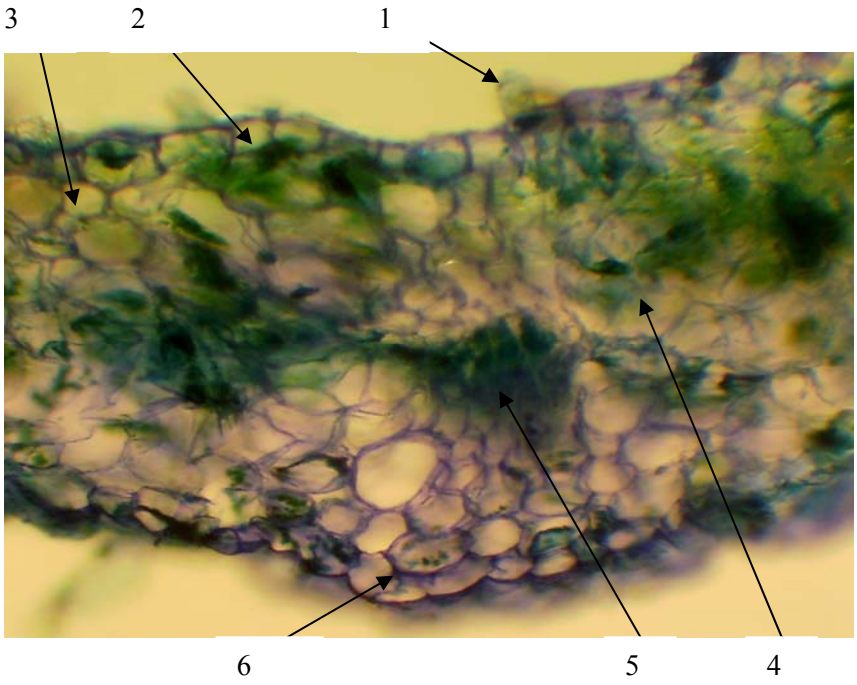
Metcalfe & Chalk (1950, 1979; 1988) kanë dhënë informacion në lidhje me karakteristikat e përgjithshme anatomike të dikotiledoneve dhe të familjes *Asteraceae*. Ndërimi anatomik i gjetheve ka një rëndësi të madhe. Studimet taksonomike të shumë familjeve janë bërë në bazë të epidermave dhe mezofilit të gjetheve (Bhatia, 1984; Jones, 1986; Adedeji, 2004; Adedeji & Jewoola, 2008).

- **Organizimi i indeve tek gjethja e dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen të kultivuara *in vitro***

Në prerjen tërthore të gjethes të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë (a) dhe të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet (b) (Fig. 3.2.7.) dallohen: epiderma, mezofili, indet përçuese dhe indet mbështetëse. Në të dy epidermat (të sipërme dhe të poshtme) ndodhen gojëzat dhe trikomat. Midis dy epidermave ndodhet parenkima asimiluese ose klorenkima. Qelizat e klorenkimës janë izodiametrike të pasura me kloroplaste, mbushur me klorofil me ngjyrë të gjelbër. Klorenkima diferencohet në dy parenkima: gardhore (palisadike) dhe zgavrore (lakunore). Parenkima gardhore ndodhet nën epidermën e sipërme. Qelizat janë të gjata. Midis tyre ndodhen hapësira ndërqelizore. Në qelizat e parenkimës gardhore ka shumë kloroplaste. Nën këtë parenkimë dhe në kontakt me epidermën e poshtme ndodhet parenkima zgavrore. Qelizat janë të lakuara në drejtim të indit përçues. Midis tyre ndodhen hapësira ndërqelizore. Në mezofil ndodhen tufat përçuese kolaterale të mbyllura me floemë nga ana e poshtme dhe ksilemë nga ana e sipërme (Cronquist, 1981). Indi mbështetës i tipit kolenkimë këndore ndodhet kryesisht pranë floemës dhe ksilemës.



a.



b.

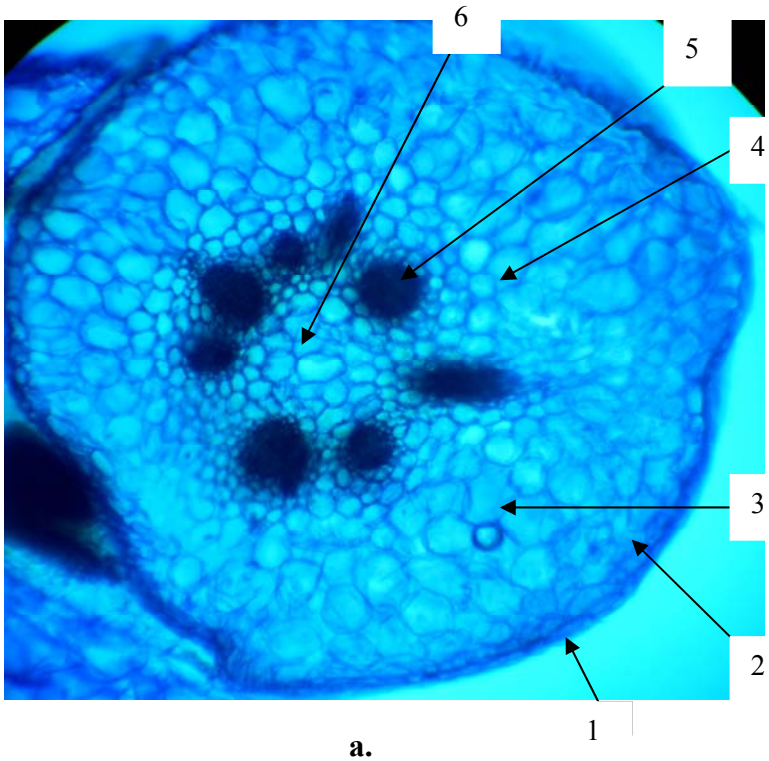
Figura 3.2.7. Prerja tërthore e gjethes së *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë (**a**) dhe të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet (**b**).
1. trikomë, **2.** epiderma e sipërme, **3.** parenkima gardhore, **4.** parenkima zgavrore, **5.** tufa përçuese, **6.** epiderma e poshtme, **7.** ind mbështetës- kolenkimë këndore.

Gjethja është e modelit izobilateral. Ky model është vëzhguar edhe në disa specie të familjes *Asteraceae* p.sh., *Baccharis dracunculifolia* (Budel *et al.*, 2004), *Calea uniflora* Less (Budel *et al.*, 2006) dhe *C. longifolia* Gardner (Farago *et al.*, 2006).

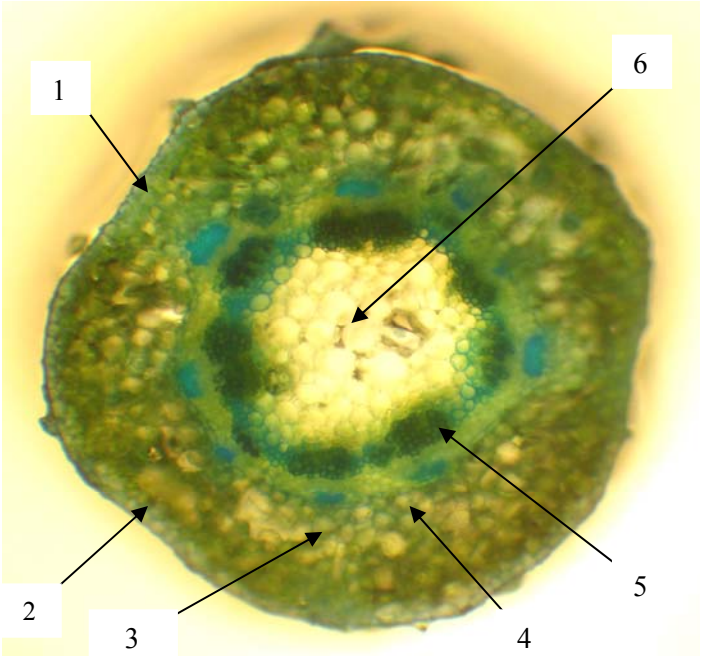
Ndërtim anatomik i ngjashëm me subspeciet në studim janë raportuar në përfaqësues të tjerë të familjes *Asteraceae*, të tilla si: *Sonchus erzincanicus* Matthews (Kandemir *et al.*, 2006), *Tussilago farfara* L. (Akçin, 2007), *Scorzonera ammophila, S. picridioides, S. virgata, S. hondae & S. laciniata* (Qureshi *et al.*, 2008), *Solidago canadensis* (Cao Fei *et al.*, 2009), *Artemisia vulgaris* L. (El-Sahhar *et al.*, 2011), *Vernonia amygadlina* Del. (Eltahir & AbuEReish, 2011), *Tridex procumbens* Linn. (Yadav & Nayak, 2011), *Lucilia nitens* Less. (Duarte *et al.*, 2011), *Centaurea glastifolia* L. (Altundağ & Gürdal, 2011), *Aster tripolium* L. (Bercu *et al.*, 2012), *Eclipta alba* (L.) Hassk, *Parthenium hysterophorous* L. (Khan *et al.*,2013), *Ageratum conyzoides* Linn. (Rahman, 2013), *Eclipta alba* (L.) Hassk, *Dioscorea bulbifera* Linn. (Sonibare & Adeniran, 2014), *Koelpinia linearis* (Al-Tameme, 2014).

- **Organizimi i indeve tek kërcelli i dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen të kultivuara *in vitro***

Në prerjen tërthore të kërcellit të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë (a) dhe të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet (b) (Fig. 3.2.8) dallohen: epiderma, qeliza të kolenkimës, parenkima e lëvores, endoderma, tufat përçuese dhe palca. Epiderma është njështresore. Në epidermë ndodhen gojëzat dhe trikomat. Nën epidermë ndodhen qeliza të indit mbështetës- të kolenkimës. Qelizat e parenkimës së lëvores kanë kloroplaste. Shtresa e fundit të parenkimës së lëvores është endoderma e cila është njështresore. Ajo është plotësisht e dallueshme në familjen *Asteraceae* (Özörgücü *et al*., 2006). Tufat përçuese janë të tipit kolateral dhe vendosen përbri njëra-tjetrës në një rreth, me floemë të vendosur në anën e jashtme dhe ksilemë në anën e brendshme. Tufat përçuese janë të mbyllura. Palca zë pjesën qendrore të kërcellit dhe ka formë të rrumbullakët. Qelizat e palcës janë sferike dhe duke shkuar nga qendra në periferi zvogëlohen. Ndërtim anatomik i ngjashëm me subspeciet në studim është raportuar në përfaqësues të tjerë të familjes *Asteraceae*, të tilla si: *Tussilago farfara* L. (Akçin, 2007), *Tridex procumbens* Linn. (Yadav & Nayak, 2011), *Centaurea glastifolia* L. (Altundağ & Gürdal, 2011), *Aster tripolium* L. (Bercu *et al*., 2012), *Eclipta alba* (L.) Hassk, *Parthenium hysterophorous* L. (Khan *et al*., 2013), *Koelpinia linearis* (Al-Tameme, 2014).



a.



b.

Figura 3.2.8. Prerja tërthore e kërcellit të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë (**a**) dhe të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet (**b**).
1. epiderma, **2.** qeliza të kolenkimës, *3.* parenkima e lëvores, **4.** endoderma, **5.** tufat përçuese, **6.** palca.

- **Organizimi i indeve tek rrënja e dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen të kultivuara *in vitro***

Në prerjen tërthore të rrënjës të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë (**a**) dhe të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet (**b**) ((Fig. 3.2.9.) dallohen: qime thithëse, rizoderma, ekzoderma, parenkima e lëvores, endoderma, pericikli, tufa përçuese. Rizoderma përbëhet nga një shtresë njëqelizore. Në rizodermë dallohen qimet thithëse. Nën rizodermë dallohet ekzoderma. Qelizat e ekzodermës janë të puthitura midis tyre. Nën ekzodermë dallohet parenkima e lëvores e cila zë pjesën më të madhe. Qelizat e parenkimës nuk kanë madhësi të njëjtë nga periferia në drejtim të qendrës. Duke shkuar në drejtim të qendrës, qelizat e parenkimës vijnë duke u zvogëluar. Endoderma përbëhet nga një shtresë qelizash të puthitura midis tyre që rrethon plotësisht cilindrin qendror. Pericikli përbëhet nga një shtresë qelizash poshtë endodermës. Nën pericikël ndodhen tufat përçuese të vendosura në një rreth. Tufat e floemës këmbehen me të ksilemës. Në qendër dallohet palca me qeliza parenkimore. Ndërtim anatomik i ngjashëm me subspeciet në studim është raportuar në përfaqësues të tjerë të familjes *Asteraceae,* të tilla si: *Tridex procumbens* Linn. (Yadav & Nayak, 2011), *Aster tripolium* L. (Bercu *et al*., 2012), *Eclipta alba* (L.) Hassk*, Parthenium hysterophorous* L. (Khan *et al*., 2013).

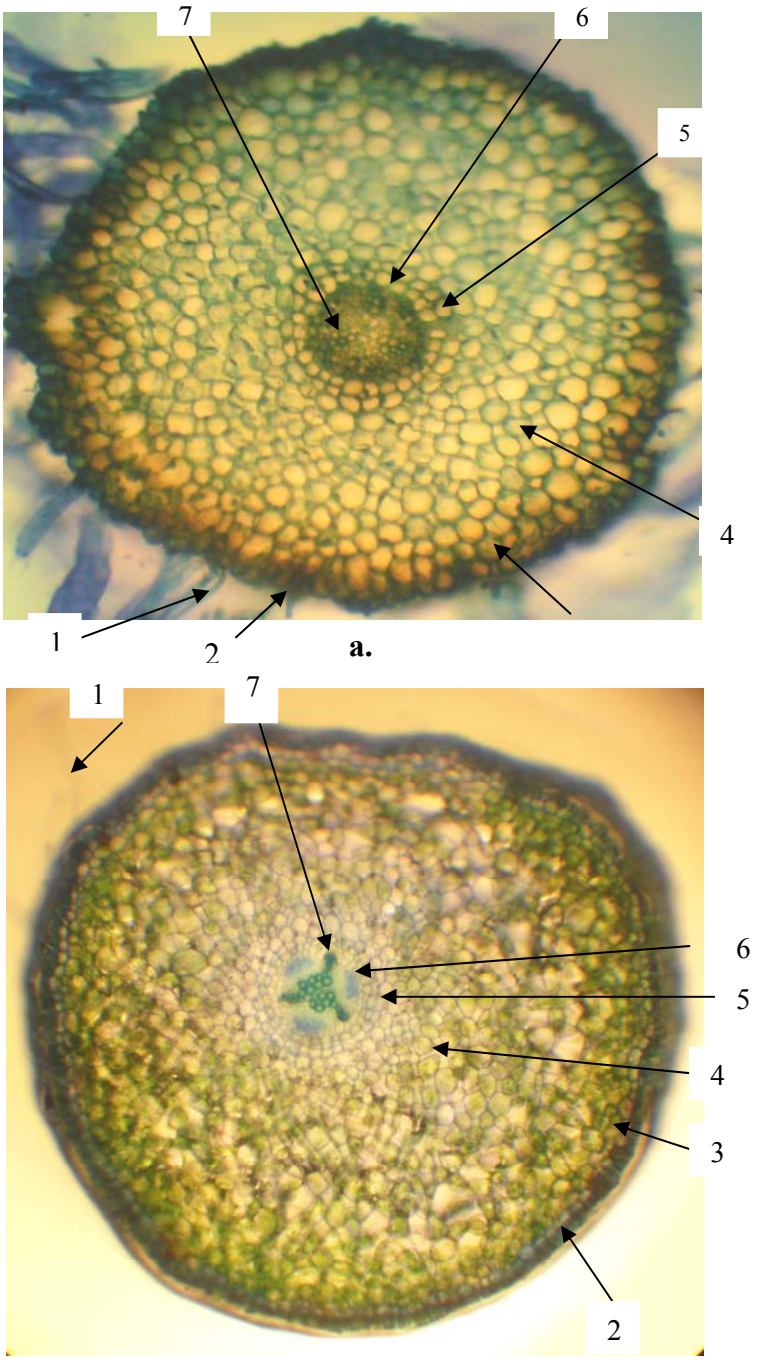


Figura 3.2.9. Prerja tërthore e rrënjës së *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë (**a**) dhe të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet (**b**).
1. qime thithëse, **2.** rizoderma, **3.** ekzoderma, **4.** parenkima e lëvores, **5.** endoderma, **6.** pericikli, **7.** tufë përçuese

3.3. Konservimi *in vitro*

Për konservimin *in vitro*, si material fillestar u përdorën bimëzat e fituara nga mikroshumimi i bimëzave të *Aster albanicus* Degen: subsp. *paparistoi* Qosja dhe subsp. *albanicus*. Diversiteti i gjermoplazmës së këtyre subspecieve nga popullata të ndryshme është shumë i rëndësishëm për ruajtjen e tyre, sepse, përveç që kontribuon në ruajtjen *ex situ* të gjermoplazmës së këtyre specieve të rralla bimore, që është edhe rekomandim i IUCN (Bilz *et al*., 2011), gjithashtu kontribuon edhe në studimin e tyre në disa aspekte, si: fiziologjik, molekular, histologjik. Për konservimin *in vitro* të këtyre subspecieve u përdorën dy metoda të rritjes minimale:

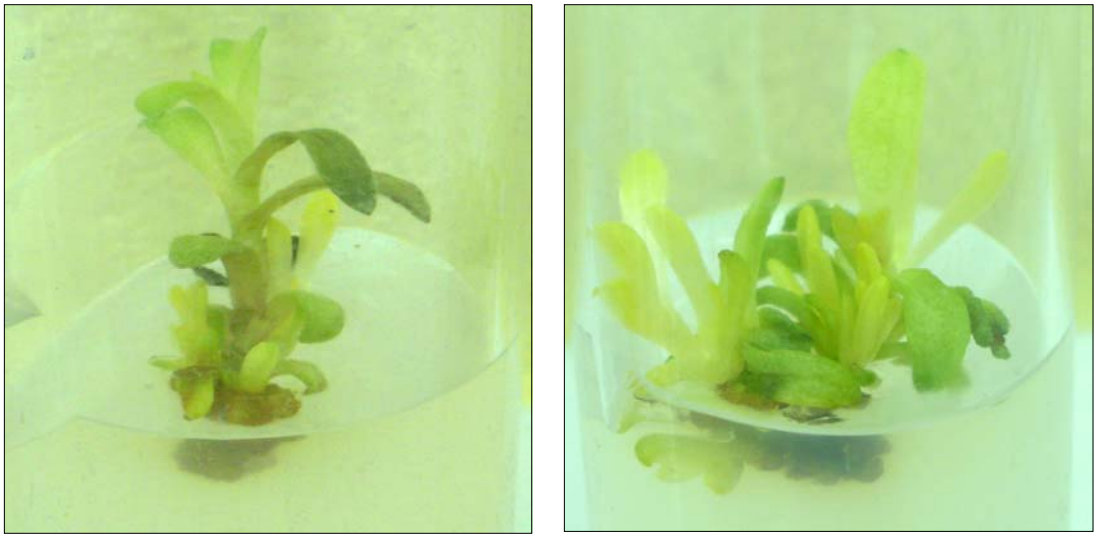
- Konservimi me anë të reduktimit të temperaturës dhe të ndriçimit;
- Konservimi me anë të reduktimit të përqendrimit të fitohormoneve ose rregullatorëve të rritjes në terrenin ushqyes.

Për konservimin e bimëzave me të dyja metodat, janë vendosur nga 2 paralele me nga 20 bimëza *in vitro* për secilën metodë.

3.3.1. Konservimi me anë të reduktimit të temperaturës dhe të ndriçimit

- **Mbijetesa e bimëzave**

Bimëzat e fituara në subkulturë nga mikroshumimi i species *Aster albanicus* Degen u mbajtën për rreth dy javë në dhomën e kulturës *in vitro* në kushte normale. Pas kësaj periudhe, bimëzat u transferuan në kushte të errësirës së plotë dhe të reduktimit të temperaturës në frigorifer (4^{o}C), në mënyrë që të vlerësohet efekti i temperaturës së ulët dhe i regjimit të ndriçimit. Kulturat janë ruajtur në të tilla kushte për periudha të ndryshme (3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 muaj).

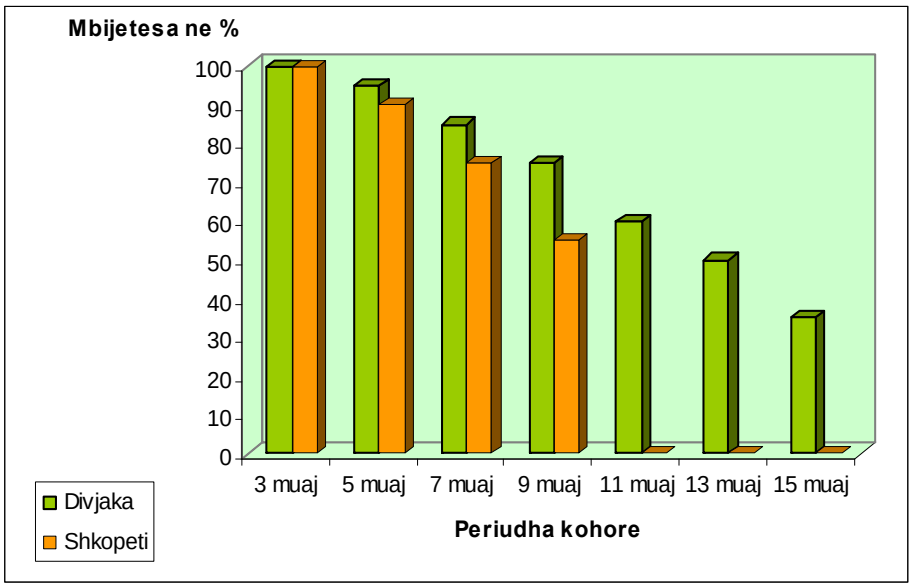


a. **b.**

Figura 3.3.1. Bimëza të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë (**a**) dhe të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet (**b**) të ruajtura në 4^{o}C (Aparat dixhital Olympus).

Mbijetesa e tyre është vlerësuar në bazë të kritereve të sugjeruara nga (Reed, 1992), sipas të cilëve, bimëzat me ngjyrë të zezë konsiderohen si të pambijetuara, ndërsa ato me pamje të shëndetshme dhe me gjethe të fuqishme konsiderohen si të mbijetuara. Përqindja e mbijetesës është vlerësuar duke njehsuar numrin e bimëzave të mbijetuara në raport me numrin e përgjithshëm të tyre të vendosura në kushte konservimi. Nga pikpamja morfolologjike, ato paraqiten dhe me gjatësi të njëjtë me atë të bimëzave të subkulturës, duket se ka frenim të rritjes në gjatësi (Fig. 3.3.1).

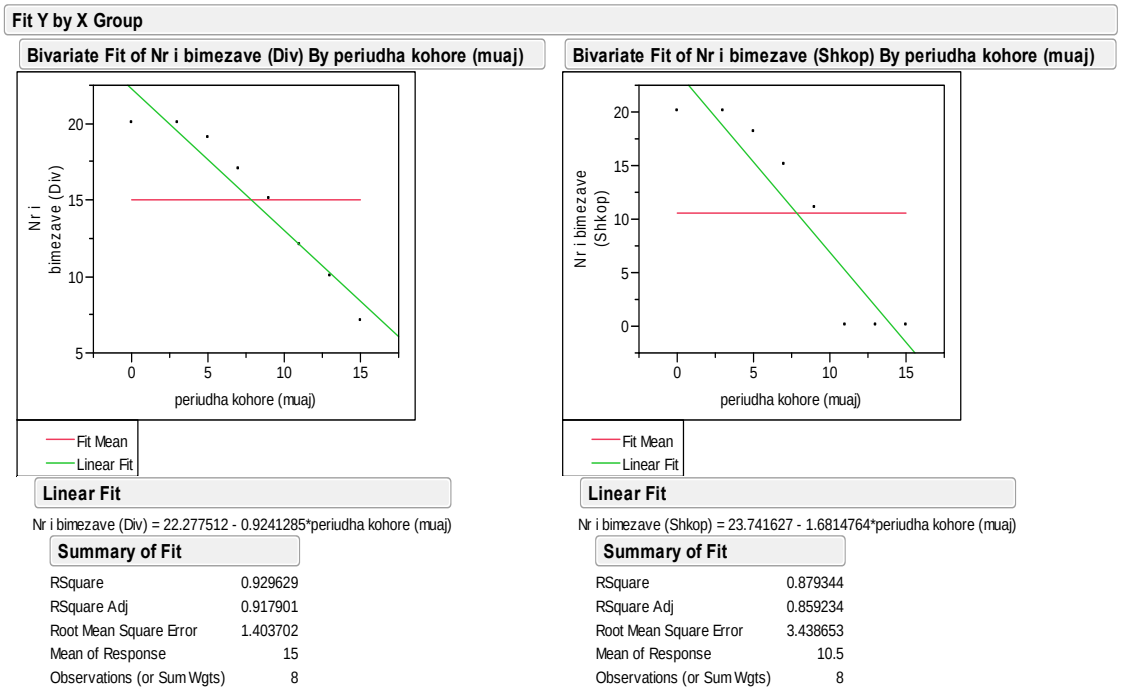
Siç e tregon Grafiku 3.1.1, në këto kushte konservimi, të dyja subspeciet dallojnë dukshëm midis tyre përsa i përket mbijetesës së bimëzave në këto kushte konservimi. Bimëzat e *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja (popullata e Divjakës) kanë mbijetuar deri në 15 muaj (35 %) dhe bimëzat e *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* (popullata e Shkopetit) kanë mbijetuar deri në 9 muaj (55%), por ato kanë paraqitur klorozë në gjethet e tyre. Më tej, ato nuk arrijnë të mbijetojnë, sepse shfaqin nekroza të theksuara. Nga të dhënat vihet re se për të dyja subspeciet deri në periudhën 9 mujore epërsi në përqindjen e mbijetesës së bimëzave ka popullata e Divjakës.



Grafiku 3.3.1. Mbijetesa e bimëzave të dy subspeceive të *Aster albanicus* Degen të ruajtura në 4^{o}C në periudha të ndryshme.

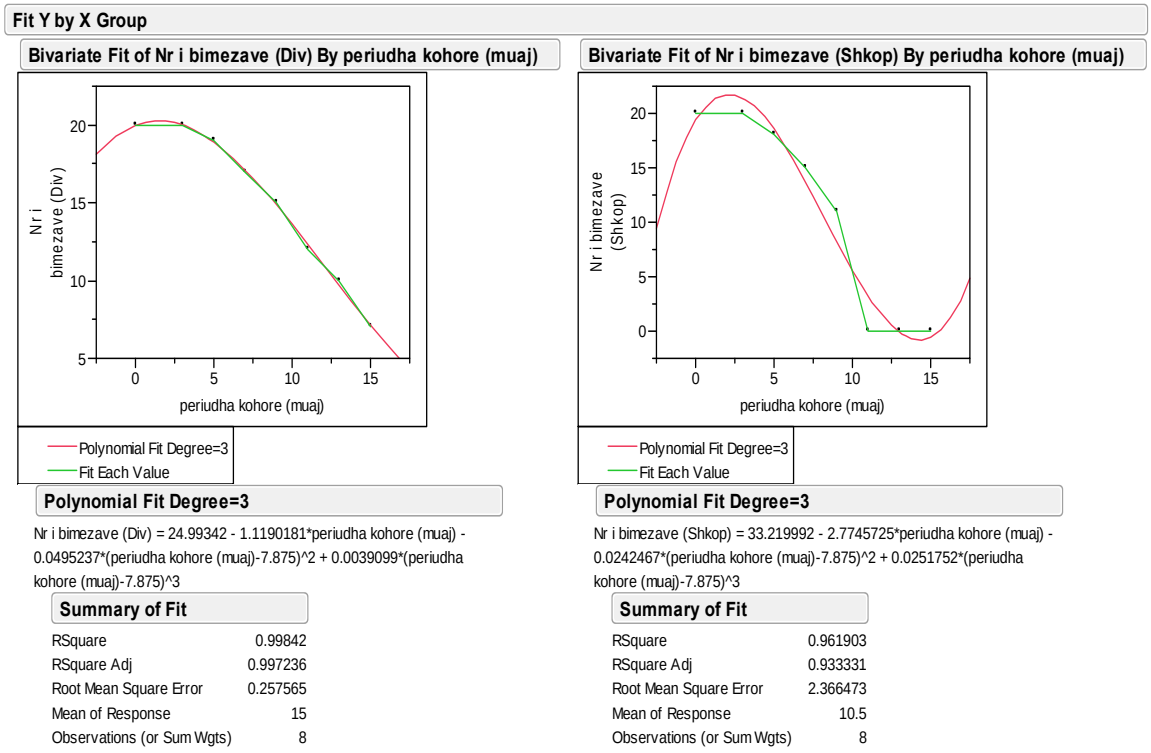
- **Përpunimi statistikor**

Në Grafikun 3.3.2 paraqitet ekuacioni i regresit linear për bimëzat e të dy popullatave të studiuara dhe mesatarja e tyre në varësi të periudhës së vrojtimit. Ekuacioni matematik tregon epërsinë që ka popullata e Divjakës në mbijetesën e bimëzave në këto kushte konservimi. Rezultatet e trajtuara statistikisht me anë të programit JMP 7 bëjnë të qartë se të dy subspeciet dallojnë dukshëm midis tyre përsa i përket mbijetesës së bimëzave. Në pasqyrën sqaruese (Linear Fit), për të dy subspeciet paraqiten ekuacionet matematike të varësisë lineare midis numrit të bimëzave të mbijetuara dhe periudhës kohore (në muaj).



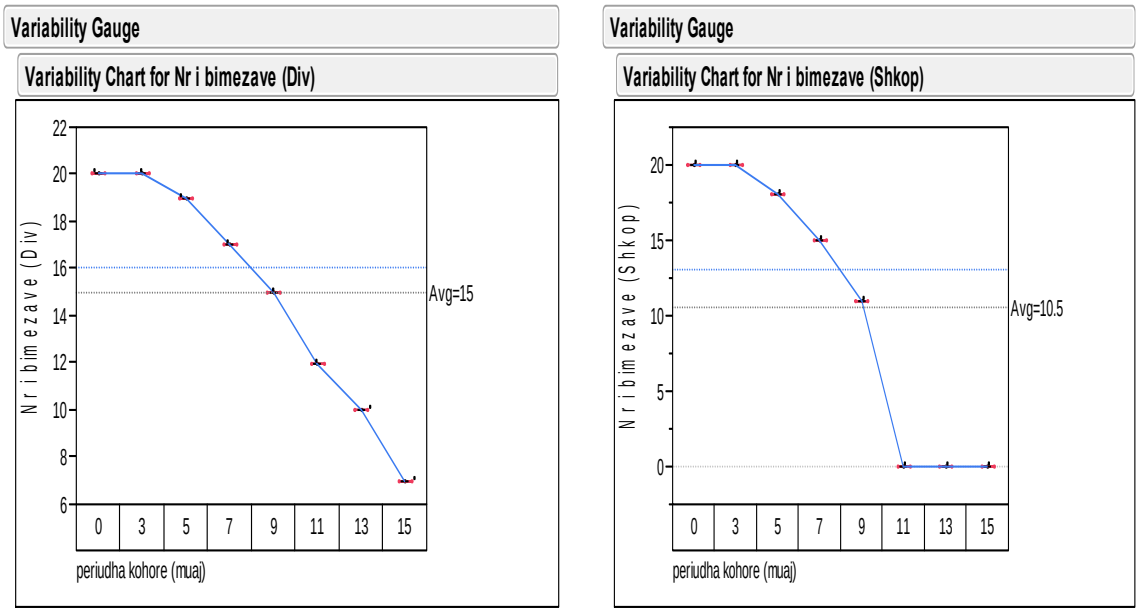
Grafiku 3.3.2. Grafiku i mesatareve dhe i ekuacioneve lineare të mbijetesës së bimëzave të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen.

Grafiku 3.3.3. paraqet ekuacionin matematik dhe grafikun përkatës të veçorisë së mbijetesës së bimëzave në varësi të kohës, për të dy subspeciet e vrojtuara. Për bimëzat e Divjakës shihet qartë se kemi një përputhje pothuajse të plotë të vijës teorike të shkallës së tretë dhe polinomit të vlerave të vrojtuara, gjë e cila tregon për një saktësi më të lartë të rezultatit të nxjerrë nga trajtimi i vlerave të vrojtuara dhe parashikimi statistikor që ofron ekuacioni i vijës së shkallës së tretë. Kjo vjen për faktin se mbijetesa e eksplanteve është e shtrirë në vlera pozitive (>0) gjatë gjithë periudhës së vrojtimit. Për bimëzat e Shkopetit shihet qartë një mospërputhje e dukshme e vijës teorike të shkallës së tretë dhe vijës polinomiale të vrojtuar, gjë që ul ndjeshëm mundësinë e parashikimit të numrit të eksplanteve të mbijetuara me anë të ekuacionit matematik. Kjo vjen për faktin se numri i eksplanteve të mbijetuara bëhet zero që në muajin e 11 të vrojtimit



Grafiku 3.3.3. Grafiku i vijave polinomiale të shkallës së tretë dhe vija e vlerave të vrojtuara të mbijetesës së bimëzave të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen.

Grafiku 3.3.4. bën një paraqitje të sjelljes reale të vrojtimeve dhe interpretimin grafik të distancës së vijës së mesatares nga mediana. Në bimëzat e Shkopetit, kjo distancë është pothuajse dy herë më e madhe se ajo e bimëzave të Divjakës. Në këtë grafik duket qartë që kjo dukuri është rezultat i bërjes zero të numrit të bimëzave të mbijetuara në muajin e 11-të të vrojtimit, vlera të cilat programi i përjashton nga llogaritja e ekuacionit të medianës.



Grafiku 3.3.4. Grafiku i krahasimit të sjelljes reale të vrojtimit të mbijetesës së bimëzave të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen.

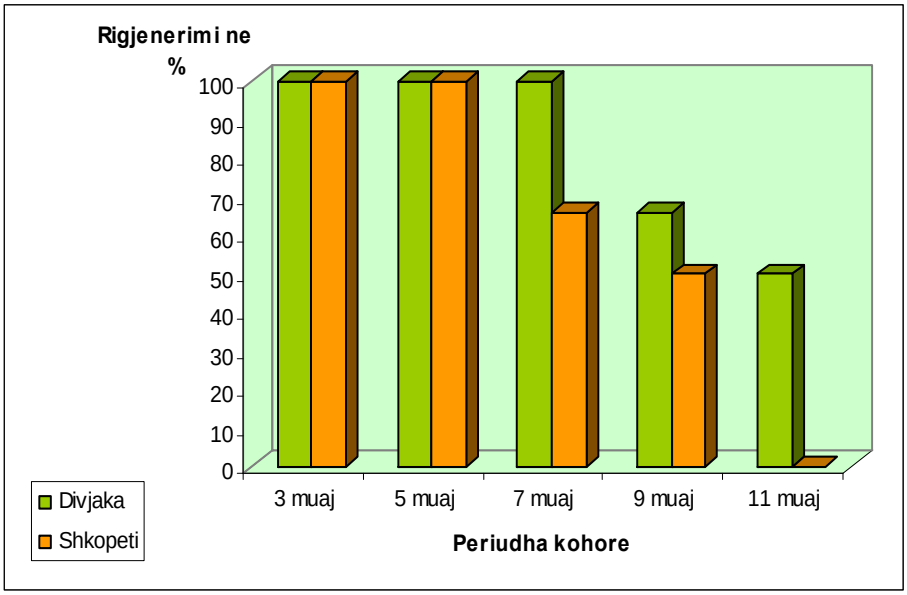
- **Rigjenerimi i bimëzave**

Pas transferimit të bimëzave në terren të freskët (i njëjtë me të subkulturës) dhe në dhomën e kulturës *in vitro* në kushte normale, është vlerësuar përqindja e rigjenerimit. Bimëza të rigjeneruara janë konsideruar ato bimëza, të cilat kanë vazhduar rritjen normale dhe kanë dhënë sythe të reja. Bimëzat që nuk vazhdojnë të rriten dhe të japin sythe anësorë janë konsideruar të parigjenerueshëm.

a. **b.**

Figura 3.3.2. Bimëza të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë (**a**) dhe të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet (**b**) të transferuara në terren të subkulturës. (Aparat dixhital Olympus).

Siç e tregon Grafiku 3.3.5, të dy subspeciet dallojnë dukshëm midis tyre përsa i përket rigjenerimit të bimëzave. Për të dy subspeciet në periudhën 3 dhe 5 mujore të koservimit, pëqindja e rigjenerimit është e lartë (100%). Nga të dhënat vihet re se për të dy subspeciet deri në periudhën 11 mujore, epërsi në përqindjen e rigjenerimit të bimëzave ka popullata e Divjakës. Bimëzat e Shkopetit rigjenerohen (50%) deri në perudhën 9 mujore të konservimit. Bimëzat e Divjakës rigjenerohen (50%) në periudhën 11 mujore të konservimit.

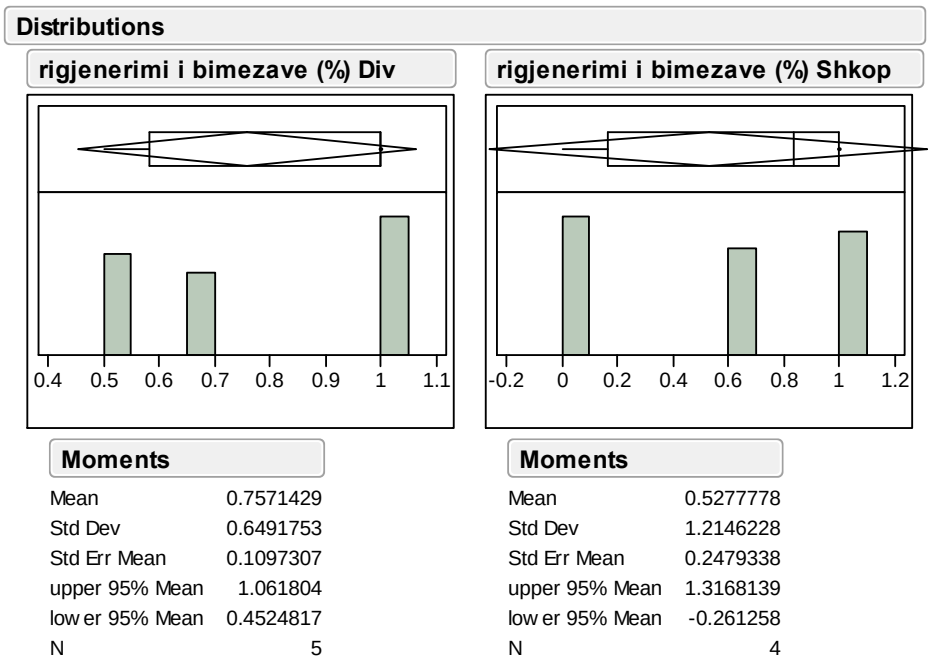


Grafiku 3.3.5. Rigjenerimi i bimëzave të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen të ruajtura në 4^{o}C në periudha të ndryshme.

- **Përpunimi statistikor**

Në grafikët 3.3.6. dhe 3.3.7. është paraqitur trajtimi statistikor i vrojtimit për veçorinë e rigjenerimit të bimëzave për popullatën e Divjakës dhe atë të Shkopetit. Në të janë përpunuar denduritë relative të vrojtimeve, pasi numri i bimëzave është i ndryshëm në periudha të ndryshme të vrojtimit. Kështu, për shkak të numrit të kufizuar të bimëzave të mbijetuara në periudhën e fundit të vrojtimit për seicilën popullatë, është ulur me një njësi edhe numri i bimëzave të eksperimentuara për të vrojtuar aftësinë rigjeneruese të bimëzave.

Në pasqyrën sqaruese të Grafikut 3.3.6. paraqiten parametrat e shpërndarjes për vrojtimin e bërë. Për bimëzat e Divjakës kemi një mesatare mbijetese të nivelit 76% me një deviacion standard të nivelit 0.65 kundrejt një mesatareje mbijetese shumë më të ulët (vetëm 53%) për bimëzat e Shkopetit, e cila shoqërohet me një deviacion standard e nivelit 1.

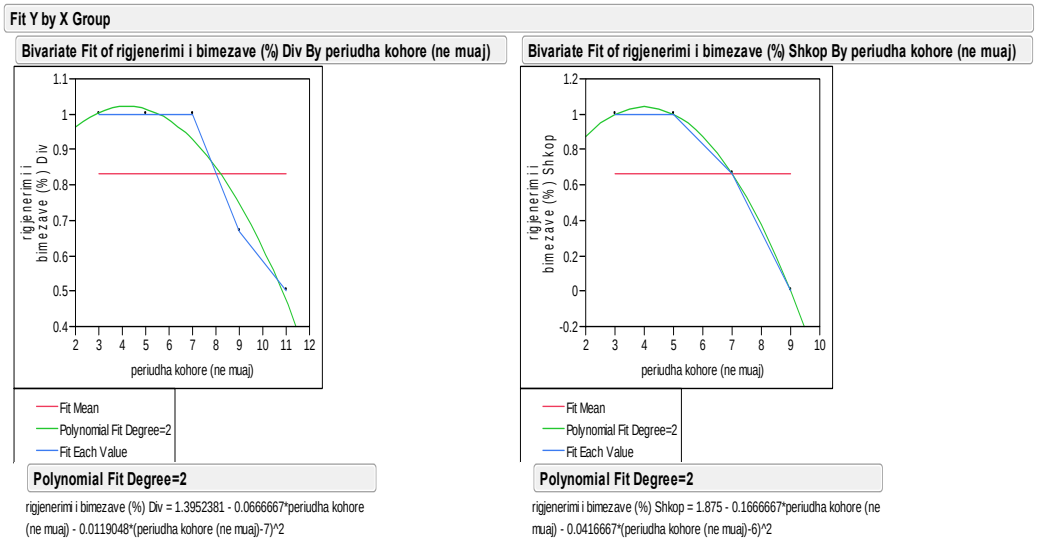


Moments	
Mean	0.7571429
Std Dev	0.6491753
Std Err Mean	0.1097307
upper 95% Mean	1.061804
low er 95% Mean	0.4524817
N	5

Moments	
Mean	0.5277778
Std Dev	1.2146228
Std Err Mean	0.2479338
upper 95% Mean	1.3168139
low er 95% Mean	-0.261258
N	4

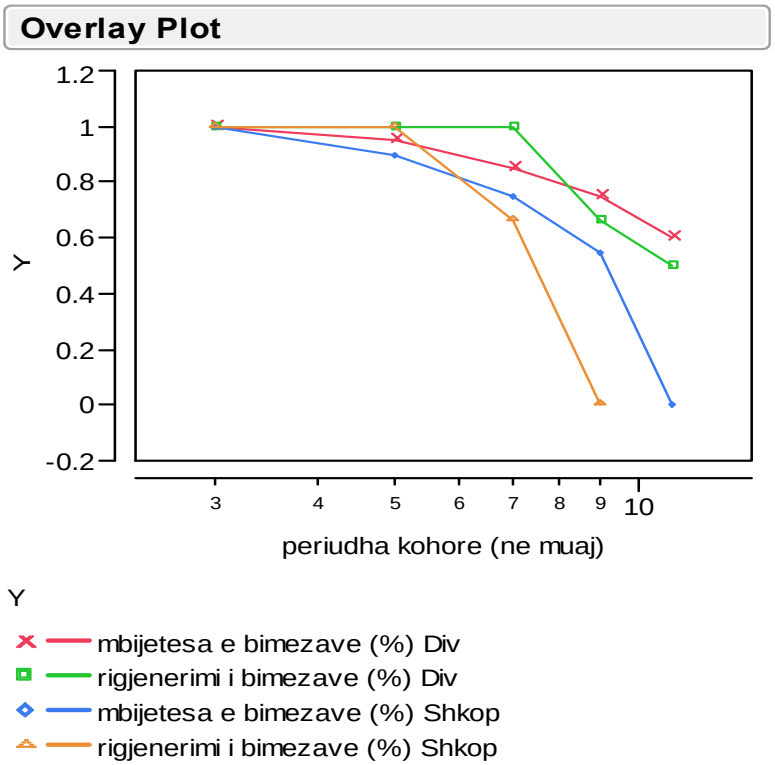
Grafiku 3.3.6. Grafiku i shpërndarjes së dendurisë relative të rigjenerimit të bimëzave të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen të ruajtura në 4ºC në periudha të ndryshme.

Në Grafikun 3.3.7. shihet se aftësia rigjeneruese e bimëzave për popullatën e Divjakës ka një pritshmëri mesatrare mbi 82% kundrejt asaj të Shkopetit, e cila nuk i kalon të 65%, por ekuacioni teorik i shkallës së dytë, për vrojtimin e Divjakës ka një mospërputhje me polinomin e vrojtimit. Kjo vjen për faktin se aftësia rigjeneruese e bimëzave në popullatën e Divjakës qëndron në nivele maksimale (100%) deri në muajin e 7-të të vrojtimit, ndërsa mbijetesa e bimëzave të Shkopetit në këtë muaj (muaji i 7-të) ka rënë në nivelin 65%.



Grafiku 3.3.7. Grafiku i mesatareve dhe i ekuacioneve kuadratike të mbijetesës së bimëzave të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen të ruajtura në 4ºC në periudha të ndryshme.

Në grafikun 3.3.8. nga studimi statistikor i të dhënave dhe paraqitja grafike e tyre, vihet re se egziston një marrdhënie në përpjestim të drejtë midis mundësisë së mbijetesës dhe aftësisë rigjeneruese të bimëzave. Kjo do të thotë që, popullata e Divjakës e cila shpreh mundësi më të mira mbijetese të bimëzave e krahasuar me bimëzat e popullatës së Shkopetit, tregon aftësi pothuajse të të njëjtit nivel për rigjenerimin e bimëzave e krahasuar me bimëzat e popullatës së Shkopetit.



Grafiku 3.3.8. Krahasimi i grupuar i aftësisë mbijetuese dhe rigjeneruese të bimëzave të dy subspecive të *Aster albanicus* Degen të ruajtura në 4ºC në periudha të ndryshme.

Ruajtja me metodën e reduktimit të temperaturës (4ºC) dhe të ndriçimit rezulton një metodë efikase, sepse bimëzat ruhen në periudha të gjata dhe paraqesin përqindje të lartë rigjenerimi pas secilës periudhë ruajtje. Sa më e gjatë të jetë periudha e ruajtjes, aq më shumë ulet përqindja e mbijetesës dhe e rigjenerimit për të gjitha speciet dhe fillojnë të shfaqen nekrozat. Në këtë rast është i nevojshëm kalimi i bimëzave në subkulturë në kushtet normale të temperaturës dhe ndriçimit në dhomën vegjetative. Temperaturat e ulëta janë aplikuar me sukses në kulturat *in vitro* të shumë specieve bimore për ruajtjen afatshkurtër dhe afatmesme të tyre. Rezultatet e studimit përputhen me studimet e shumë autorëve të tjerë. Konservimi *in vitro* i specieve *Gypsophila petraea* dhe *Dianthus callizonus* në temperaturë 10^0C tregoi rezultate të kënaqshme dhe bimëzat e tyre u ruajtën deri në 12 muaj (Catana *et al*., 2010). Ruajtja me anë të konservimit *in vitro* në temperaturë 4^0C dhe fotoperiodë 12 orë rezultoi të jetë shumë e suksesshme edhe për bimët e *Mentha* spp. dhe *Rubus* spp. (Reed, 1993, 1999). Sharma & Chandel (1992) raportuan ruajtjen e bimës *Rauvolfia serpentine* në *in vitro* për 15 muaj në temperatura të

ulëta. Në studimet e shumë autorëve të tjerë mbi konservimin ka rezultuar efikase në ruajtjen për 5 muaj të *Ramonda serbica* Panç (Kongjika *et al*., 2002; 2010), 6 muaj të *Origanum vulgare* (Mata *et al.*, 2009), 10 muaj të *Myrtus communis* L. (Mata *et al.*, 2010), 14 muaj të *Zizyphus jujuba* Miller, *Prunus avium* L. (Mata & Kongjika, 2011). Periudhat më optimale të konservimit rezultojnë ato 3 dhe 6 muaj për shumicën e kultivarëve. Këto rezultate përputhen me studimet e shumë autorëve të tjerë mbi konservimin e mollës luleshtrydhes, patates etj. (Wanas *et al.,* 1986; Orlilkowska, 1992; Negri *et al.*, 2000; Capuana *et al.,* 2008). Variabiliteti në përqindjen e mbijetesës dhe të rigjenerimit të specieve të ndryshme bimore apo edhe të kultivarëve të ndryshëm brenda një specieje është i lidhur ngushtë me përbërjen e ndryshme gjenetike midis tyre.

3.3.2. Konservimi me anë të reduktimit të përqendrimit të fitohormoneve ose të rregullatorëve të rritjes në terrenin ushqyes

Rritja e materialit bimor mund të frenohet dukshëm, kur përqëndrimi i hormoneve bimore dhe rregullatorëve të rritjes gjendet në terren nën nivelet optimale apo mungon fare. Ky efekt është përdorur gjerësisht për ruajtjen e materialit gjenetik.

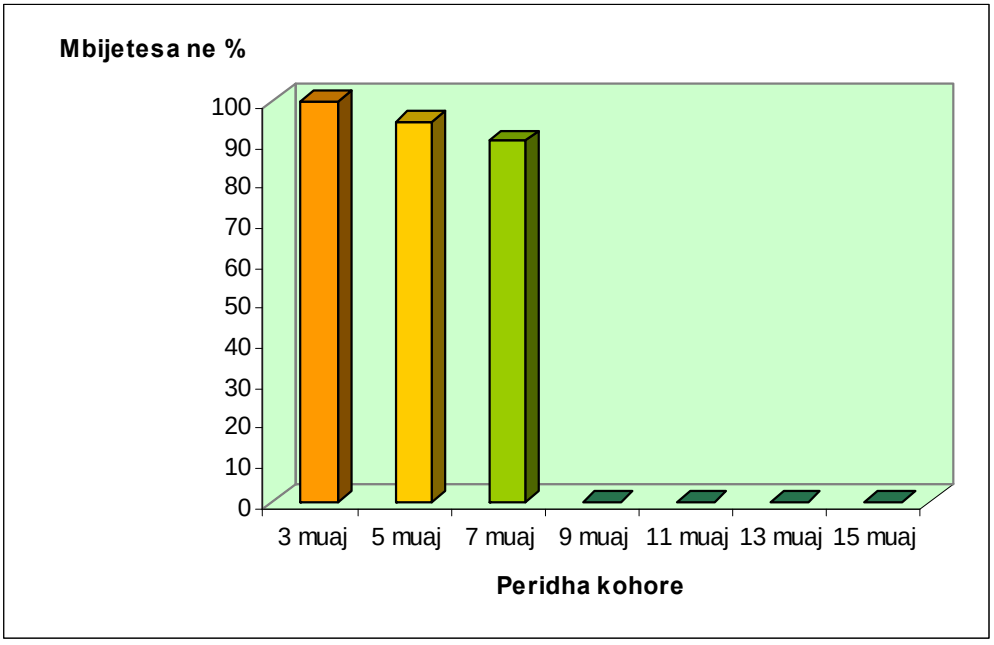
- **Mbijetesa e bimëzave**

Bimëzat e fituara në subkulturë nga mikroshumimi i *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja dhe subsp. *albanicus* janë transferuar në terren ushqyes MS, pa fitohormone, në kushte normale të fotoperiodës dhe temperaturës. Përqindja e mbijetesës është vlerësuar duke njehsuar numrin e bimëzave të mbijetuara në raport me numrin e përgjithshëm të tyre të vendosura në kushte konservimi. Bimëzat e *Aster albanicus* subsp. *albanicus* (popullata e Shkopetit) mbijetuan deri në muajin e tretë. Pas muajit të tretë ato nuk arrijnë të mbijetojnë, sepse shfaqin nekroza të theksuara. Bimëzat e *Aster albanicus* subsp. *paparistoi* Qosja (popullata e Divjakës) mbijetuan në gjëndje shumë të mirë deri në muajin e shtatë (Fig. 3.3.3). Nga pikpamja morfolologjike, ato ndryshojnë nga bimëzat e subkulturës. Ka rritje në gjatësi, shtim të numrit të gjetheve dhe formim të rrënjëve.

a. **b.**

Figura 3.3.3. Bimëza të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë (**a**) dhe të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet (**b**) në terren pa fitohormone. (Aparat dixhital Olympus).

Metoda e reduktimit të përqendrimit të fitohormoneve ose të rregullatorëve të rritjes në terrenin ushqyes është efikase vetëm për bimëzat e popullatës së Divjakës. Në tremujorin e parë bimëzat mbijetuan 100%, në muajin e pestë mbijetuan 95% dhe deri në muajin e shtatë mbijetuan 90% (Grafiku 3.3.9).



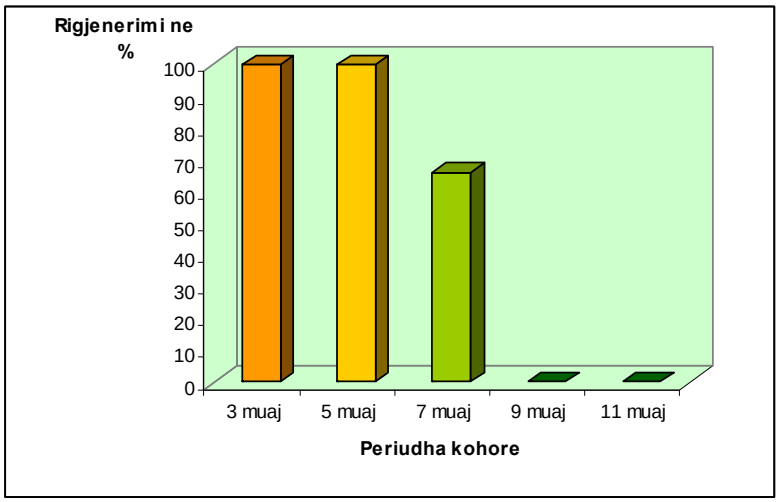
Grafiku 3.3.9. Mbijetesa e bimëzave të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja të ruajtura në terren ushqyes pa fitohormone në periudha të ndryshme.

- **Rigjenerimi i bimëzave**

Pas transferimit të bimëzave në terren të freskët e në dhomën e kulturës *in vitro* në kushte normale, është vlerësuar përqindja e rigjenerimit. Bimëza të rigjeneruara janë konsideruar ato bimëza, që kanë vazhduar rritjen normale dhe kanë dhënë sythe të reja. Bimëzat që nuk vazhdojnë të rriten e të japin sythe anësorë konsiderohen të parigjenerueshme.

Figura 3.3.4. Bimëza e *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë, e transferuar në terren të subkulturës. (Aparat dixhital Olympus).

Popullata e Divjakës rezulton me përqindje të lartë rigjeneruese (100%) në tre dhe pesë muaj. Pas 7 muajsh konservim në të tilla kushte, përqindja rigjeneruese arrin në 66% (Grafiku 3.3.10)



Grafiku 3.3.10. Rigjenerimi i bimëzave të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja të ruajtura në terren ushqyes pa fitohormone në periudha të ndryshme.

Kjo përqindje e lartë e mbijetesës të bimëzave gjatë kësaj periudhe na lejon t'a vlerësojmë si teknikë efikase për konservimin e kësaj subspecie. Këto rezultate përputhen me studimet e shume autorëve të tjerë. Për luleshtrydhen është arritur që të ruhen bimë mëma në terrenin JG-B në mungesë të fitohormoneve pa shfaqje të ndryshimeve në vetitë specifike të kultivarëve (Jungnickel, 1988). Teknikat e ruajtjes *in vitro* për *Fragaria* sp. përdorin nivele minimale të citokininave dhe të auksinave për kulturat, kurse në terrenet ushqyese të ruajtjes nuk përdorin fitohormone (Reed & Hummer, 1995). Kjo metodë e ruajtjes ka rezultuar efikase në ruajtjen për 12 muaj të *Ramonda serbica* Panç (Kongjika *et al*., 2002; 2010), 4 muaj të *Myrtus communis* L. (Mata & Kongjika, 2010), 5 muaj të *Zizyphus jujuba* Miller, *Prunus avium* L. (Mata & Kongjika, 2011).

3.3.3. Krahasimi i të dy metodave në konservimin e *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja (popullata e Divjakës).

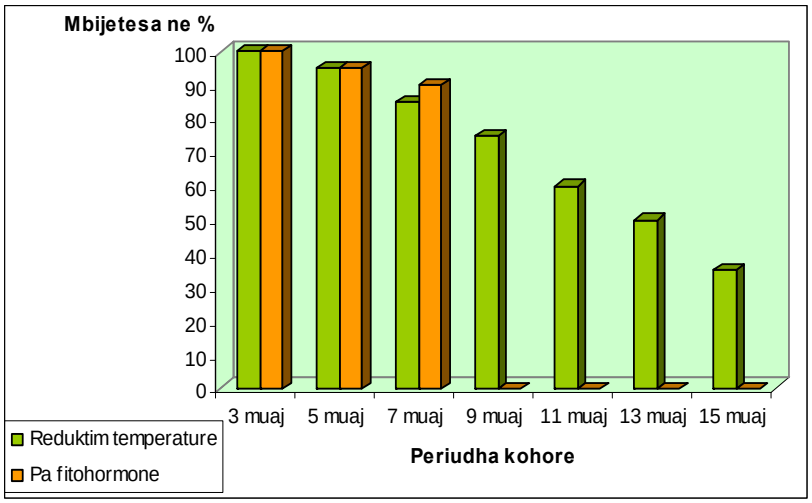
Për *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja (Divjakë) janë testuar metodat:

1. Konservimi me anë të reduktimit të temperaturës dhe të ndriçimit;
2. Konservimi me anë të reduktimit të përqendrimit të fitohormoneve ose rregullatorëve të rritjes në terrenin ushqyes.

Është analizuar kohëzgjatja e mbijetesës dhe rigjenerimit të bimëzave të dyja metodat.

- **Mbijetesa e bimëzave**

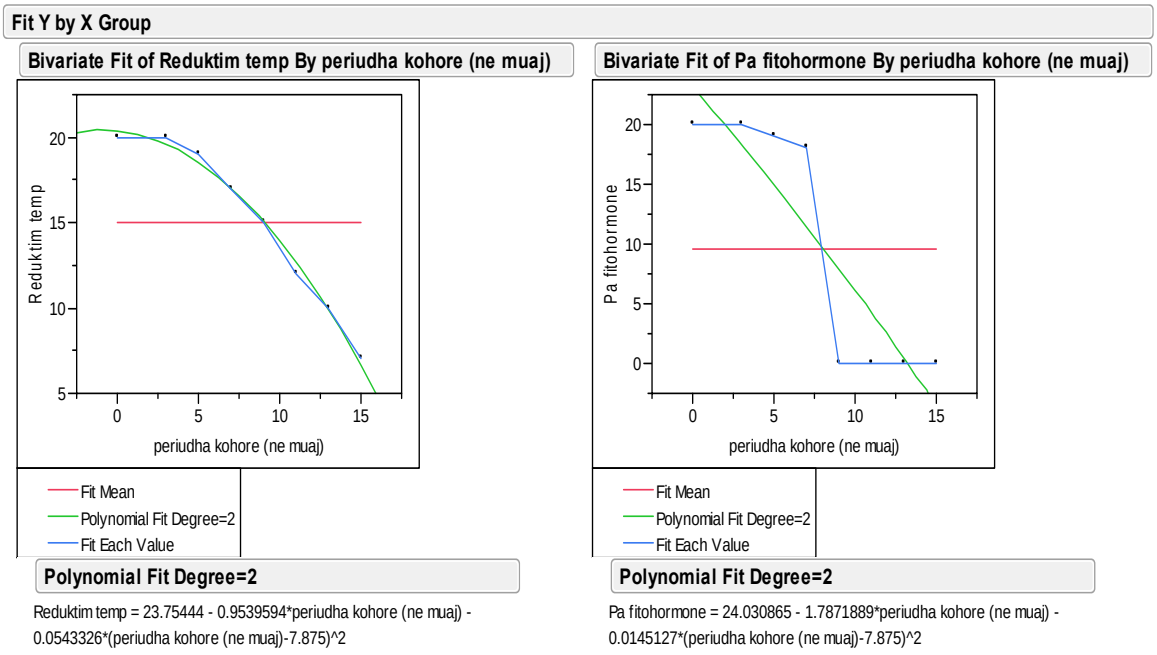
Në Grafikun 3.3.11 vihet re se në muajin e tretë dhe të pestë, bimëzat kanë përqindje mbijetese të njëjtë në të dy metodat. Në muajin e 7-të, përqindja e mbijetesës me teknikën e reduktimit të përqendrimit të fitohormoneve është më e madhe se përqindja e mbijetesës me teknikën e reduktimit të temperaturës dhe të ndriçimit, por është periudha maksimale e mbijetesës së bimëzave. Mbijetesa me teknikën e reduktimit të temperaturës dhe të ndriçimit vazhdon edhe në muajt e tjerë. Periudha maksimale e mbijetesës së bimëzave me teknikën e reduktimit të temperaturës dhe të ndriçimit është në muajin e 15-të.



Grafiku 3.3.11. Mbijetesa e bimëzave të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja të konservuara me metoda të ndryshme.

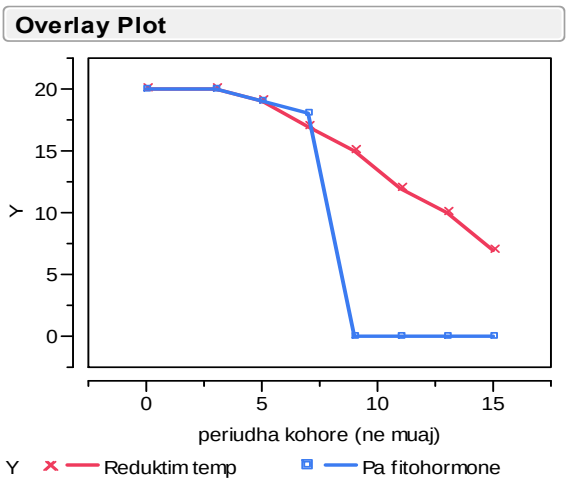
- **Përpunimi statistikor**

Në Grafikun 3.3.12 jepet paraqitja grafike e rezultatit të studimit statistikor me anë të programit JMP 7 të të dhënave të vrojtuara për mbijetesën e eksplanteve të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja (popullata e Divjakës) të konservuara me dy metoda të ndryshme. Nga grafiku i ekuacionit polinomial të gradës së dytë (vija jeshile) vihet re se në metodën e reduktimit të temperaturës (4^{o}C) dhe të ndriçimit kemi në pritshmëri mesatare mbijetese të nivelit 75% dhe një përputhje pothuajse të plotë me polinomin e vlerave të vrojtuara, që na lejon ta perdorim ekuacionin matematik për parashikimin e mbijetesës së bimëzave për këtë metodë, me një saktësi 95%. Për metodën e reduktimit të përqendrimit të fitohormoneve ose të rregullatorëve të rritjes në terrenin ushqyes vihet re se kemi një pritshmëri mesatare nën 50% dhe ndërkohë një mospërputhje të dukshme të ekuacionit matematik të shkallës së dytë me polinomin e vlerave të vrojtuara. Kjo anomali vjen për faktin se mbijetesa e bimëzave me këtë metodë është në parametra të mirë deri në muajin e 7-të dhe pastaj bie menjeherë në nivelin minimal në muajin e 9-të.



Grafiku 3.3.12. Grafiku i mesatareve dhe i ekuacioneve lineare të mbijetesës së bimëzave për të dy metodat e konservimit.

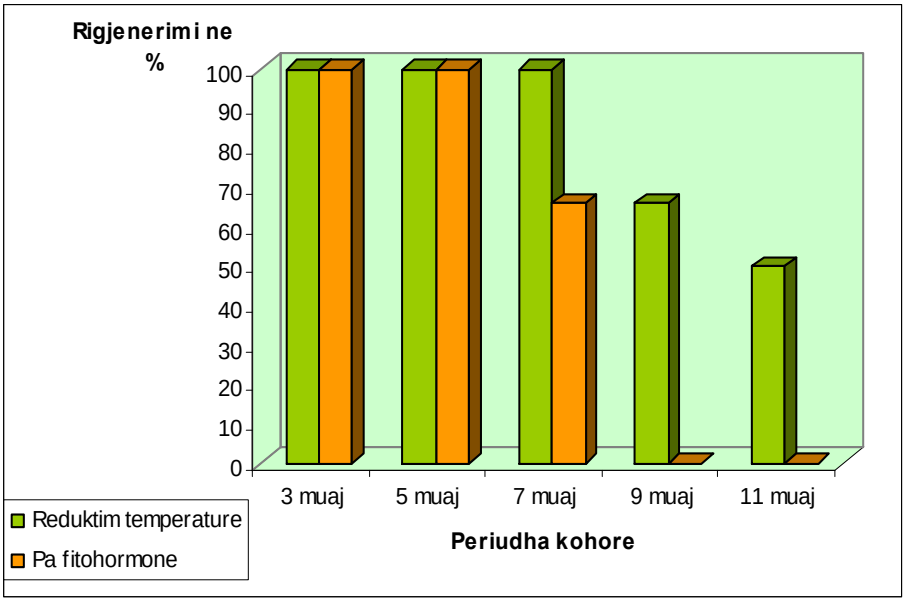
Grafiku 3.3.13, paraqet një krahasim optik dhe të qartë të aftësisë mbijetuese të bimëzave për dy metodat e konservimit në periudha të ndryshme kohore. Kështu, mund të vërejmë se deri në muajin e 7-të, aftësia mbijetuese është e njëjtë për të dy metodat. Në këtë muaj (muaji i 7-të), konservimi me metodën e reduktimit të përqendrimit të fitohormoneve ose të rregullatorëve të rritjes në terrenin ushqyes fiton një epërsi prej vetem 4% dhe më pas e humbet që në vrojtimin pasardhës (muaji i 9-të), në të cilin bie në nivelet minimale (0%).



Grafiku 3.3.13. Krahasimi i tendencës mbijetuese të bimëzave për të dy metodat e konservimit.

- **Rigjenerimi i bimëzave**

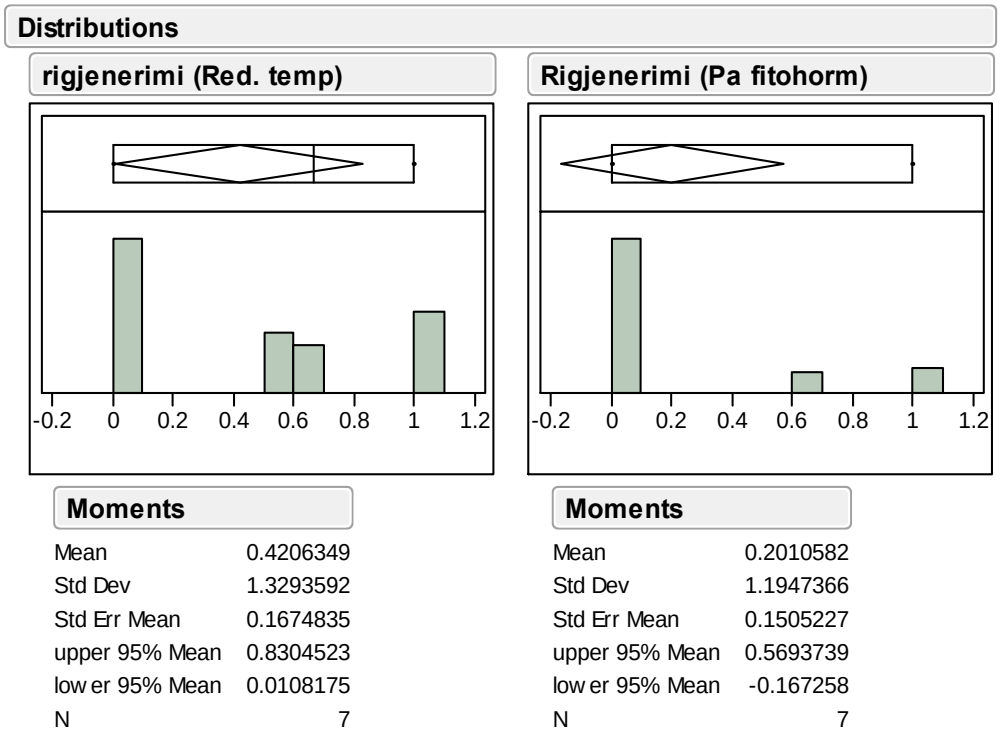
Pas transferimit të bimëzave në terren të freskët (i njëjtë me të subkulturës) dhe në dhomën e kulturës *in vitro* në kushte normale, janë vlerësuar dhe krahasuar përqindja e rigjenerimit të bimëzave të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja (popullata e Divjakës) me metoda të ndryshme. Në Grafikun 3.3.14 vihet re se në muajin e 3-të dhe të 5-të, bimëzat kanë përqindje rigjenerimi të njëjtë në të dy metodat. Në muajin e 7-të, përqindja e rigjenerimit me metodën e reduktimit të përqendrimit të rregullatorëve të rritjes në terrenin ushqyes është periudha maksimale. Rigjenerimi i bimëzave me metodën e reduktimit të temperaturës (4^{o}C) e të ndriçimit vazhdon edhe në muajt e tjerë. Periudha maksimale e rigjenerimit të bimëzave me këtë metodë është në muajin e 11-të.



Grafiku 3.3.14. Rigjenerimi i bimëzave të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja të konservuara me metoda të ndryshme.

- **Përpunimi statistikor**

Në Grafikun 3.3.15 paraqiten shpërndarjet probabilitare dhe intervalet e mbulimit 95%-she të pritshmerisë së numrit të bimëzave të rigjeneruara. Në pasqyrën sqaruese shprehen mesataret e vrojtimit për secilën metodë konservimi. Mesatarja e rigjenerimit për metodën e konservimit me reduktim temperature dhe ndriçimi (42%) është gati dyfishi i mesatares së metodës së reduktimit të përqendrimit të rregullatorëve të rritjes në terrenin ushqyes (20%), ndërkohë që deviacionet standarde i kanë në nivele pothuajse të barabarta (1.3 për metodën e parë dhe 1.2 për metodën e dytë).

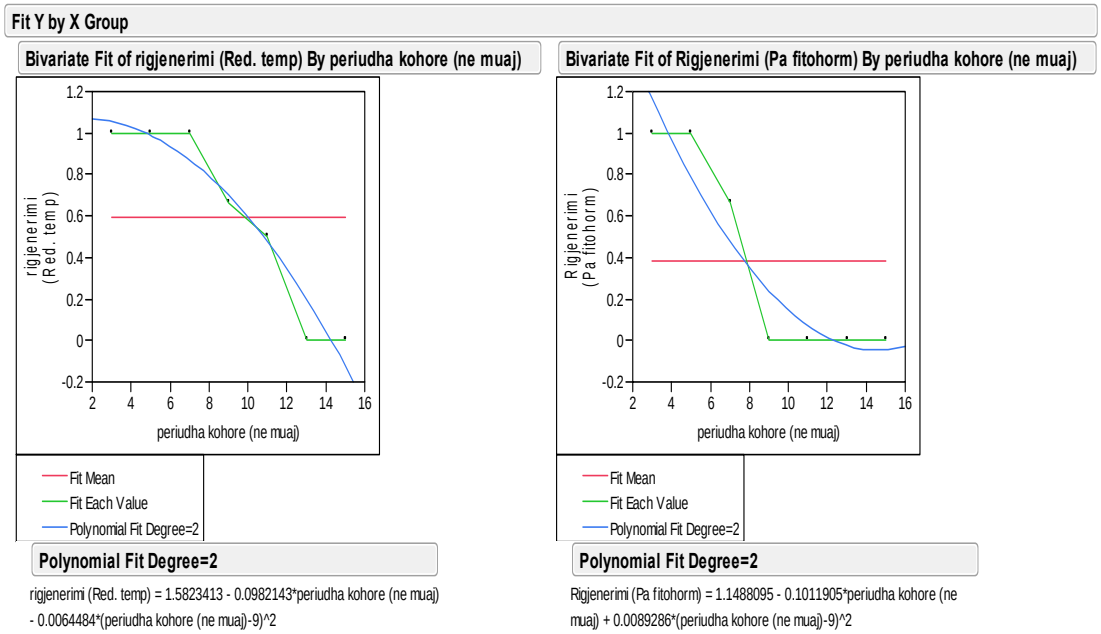


Moments	
Mean	0.4206349
Std Dev	1.3293592
Std Err Mean	0.1674835
upper 95% Mean	0.8304523
low er 95% Mean	0.0108175
N	7

Moments	
Mean	0.2010582
Std Dev	1.1947366
Std Err Mean	0.1505227
upper 95% Mean	0.5693739
low er 95% Mean	-0.167258
N	7

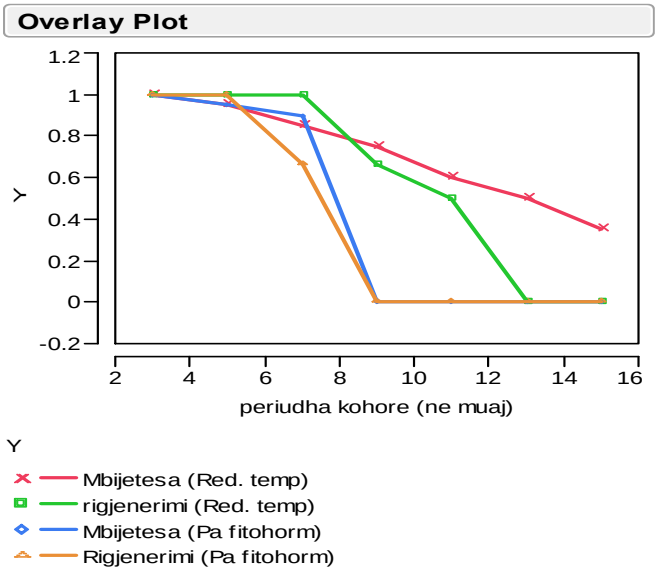
Grafiku 3.3.15. Grafiku i shpërndarjeve probabilitare të dendurisë relative të rigjenerimit të bimëzave të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja për të dy metodat e konservimit.

Në Grafikun 3.3.16. shihet se pritshmëria mesatare teorike e rigjenerimit është 60% për metodën e konservimit me anë të reduktimit të temperaturës (4ºC) dhe të ndriçimit dhe nuk i kalon 40% për metodën e konservimit me anë të reduktimit të përqendrimit të fitohormoneve ose të rregullatorëve të rritjes në terrenin ushqyes. Duket sikur pritshmëria mesatare teorike për metodën e dytë (konservimi pa fitohormone) rritet ndjeshëm në krahasim me mesataren e vrojtuar që jepet në grafikun 3.3.15 (20%). Në grafikun 3.3.16 shohim se procesi i rigjenerimit ndërpritet në muajin e 9-të dhe është mospërputhja e vijës teorike të shkallës së dytë (vija blu) me polinomin e vlerave të vrojtuara (vija jeshile) që sjell një rritje fiktive të pritshmërisë teorike. Duhet thënë se varësia në përpjestim të drejtë midis mbijetesës dhe aftësisë rigjeneruese të bimëzave është shkaku që ka ndikuar në ndërprerjen e procesit të rigjenerimit për metodën e dytë (konservimi pa fitohormone).



Grafiku 3.3.16. Grafiku i mesatareve dhe i ekuacioneve kuadratike të rigjenerimit të bimëzave të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja për të dy metodat e konservimit.

Në Grafikun 3.3.17 vërehet qartë varësia në përpjestim të drejtë e aftësisë së bimëzave për tu rigjeneruar kundrejt aftësisë për të mbijetuar në një terren të caktuar. Ajo që bie në sy nga paraqitja grafike e përpunimit statistikor të të dhënave është se procesi i rigjenerimit e mbijetesës për metodën e reduktimit të përqendrimit të rregullatorëve të rritjes në terrenin ushqyes ndërpriten njëkohësisht (vija blu e portokalli edhe pse me një trend të ndryshëm, arrijnë vlerën zero të ordinatës së tyre në të njëjtën periudhë kohore).



Grafiku 3.3.17. Krahasimi i grupuar i aftësisë mbijetuese dhe rigjeneruese të bimëzave të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja për të dyja metodat e konservimit.

Duke ruajtur bindjen e varësisë lineare midis këtyre dy dukurive, mund të themi se është pamundësia për të mbijetuar ajo që kushtëzon aftësinë rigjeneruese të bimëzave të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja.

Ruajtja e gjermoplazmës së specieve në studim me këto metoda të konservimit *in vitro* për një kohë të shkurtër është mjaft e përshtatshme për kushtet tona dhe se nuk kërkon kosto dhe hapësira të mëdha.

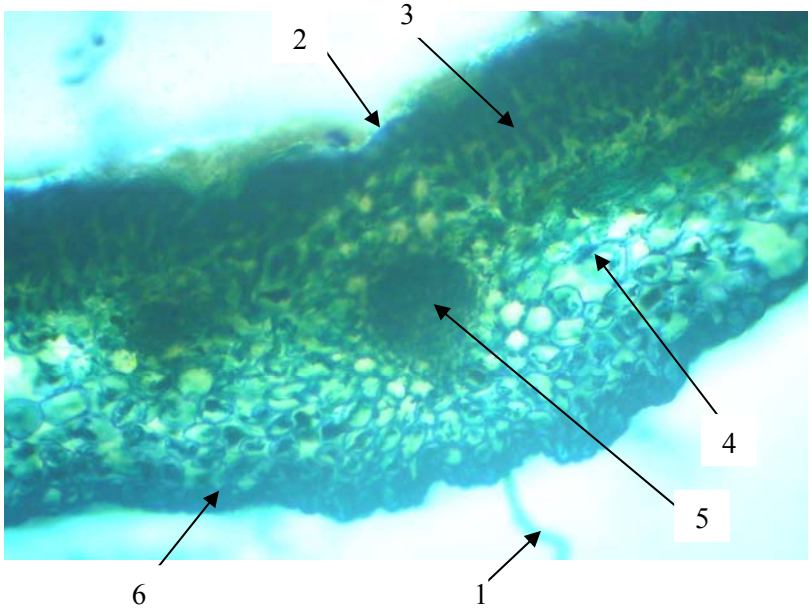
3.3.4. Histogjeneza e eksplanteve të të dy subspecieve

Pas konservimit me anë të reduktimit të temperaturës dhe të ndriçimit janë studiuar gjethet, kërcenjtë e bimëzave të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen. Pas konservimit me anë të reduktimit të përqendrimit të fitohormoneve ose të rregullatorëve të rritjes në terrenin ushqyes janë studiuar gjethja, kërcelli dhe rrënja e *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë, (Fig. 3.3.5; Fig. 3.3.6; Fig.3.3.7). Kjo metodë ishte efikase për bimëzat e kësaj subspecie.

- **Organizimi i indeve tek gjethja e dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen të konservuara *in vitro***

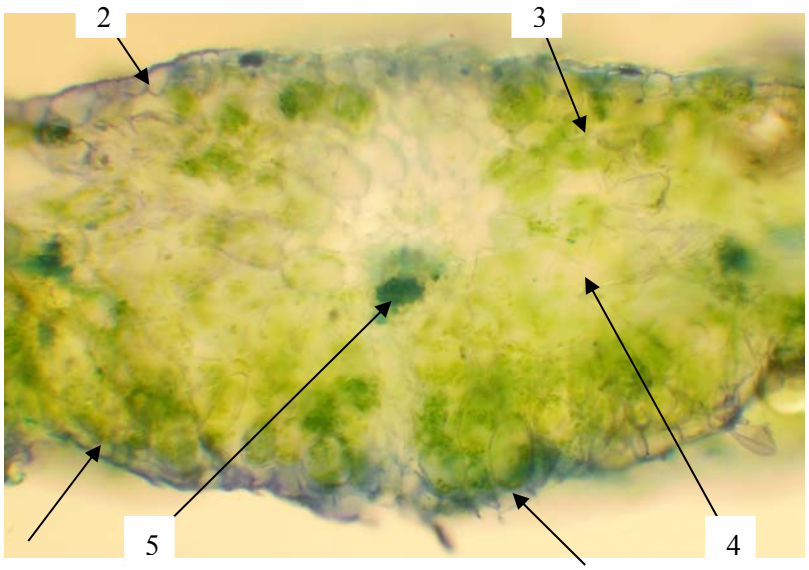
Në prerjen tërthore të gjetheve (Fig. 3.3.5) dallohen: epiderma, mezofili, indet përçuese dhe indet mbështetëse. Në të dy epidermat (të sipërme dhe të poshtme) ndodhen gojëzat dhe trikomat. Midis dy epidermave ndodhet parenkima asimiluese ose klorenkima. Qelizat e klorenkimës janë izodiametrike të pasura me kloroplaste, mbushur me klorofilë me ngjyrë të gjelbër. Klorenkima diferencohet në dy parenkima: gardhore (palisadike) dhe zgavrore (lakunore). Parenkima gardhore ndodhet nën epidermën e sipërme. Qelizat janë të gjata. Midis tyre ndodhen hapësira ndërqelizore.

.

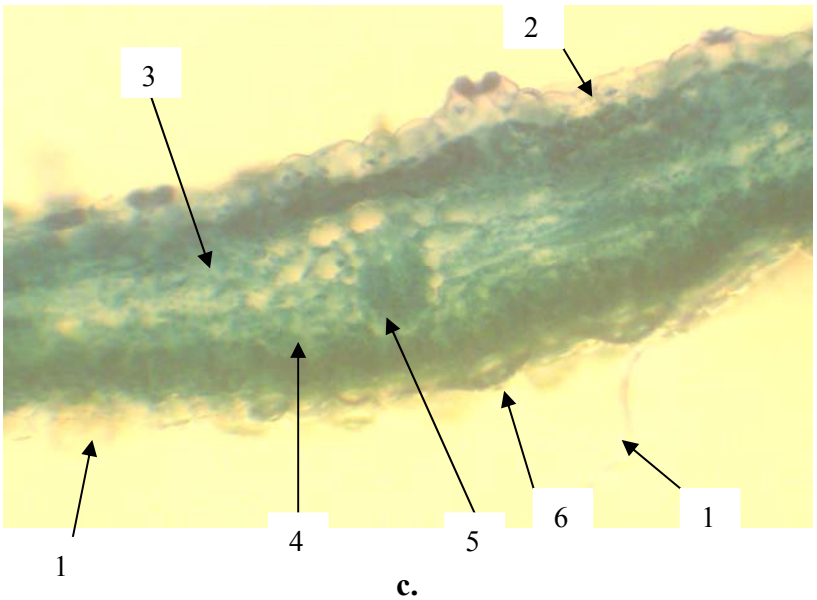


a.

Në qelizat e parenkimës gardhore ka shumë kloroplaste. Nën këtë parenkimë dhe në kontakt me epidermën e poshtme ndodhet parenkima zgavrore. Qelizat janë të lakuara në drejtim të indit përçues. Midis tyre ndodhen hapësira ndërqelizore. Në mezofil ndodhen tufat përçuese kolaterale të mbyllyra me floemë nga ana e poshtme dhe ksilemë nga ana e sipërme (Cronquist, 1981). Indi mbështetës i tipit kolenkimë këndore ndodhet kryesisht pranë floemës dhe ksilemës.



b.

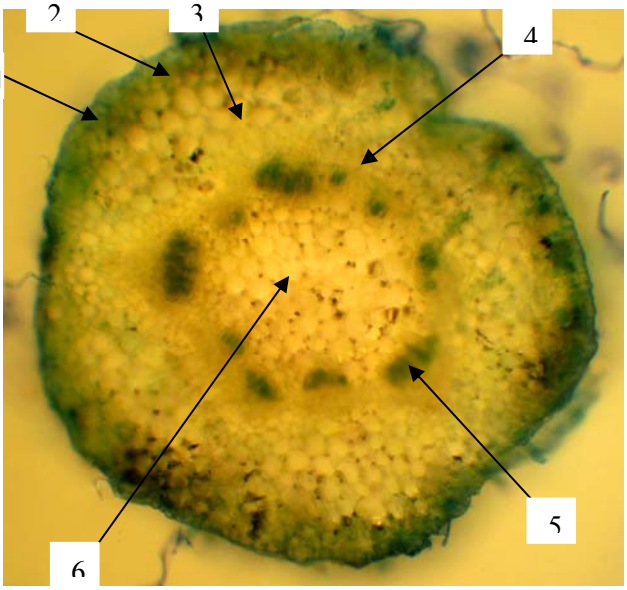


c.

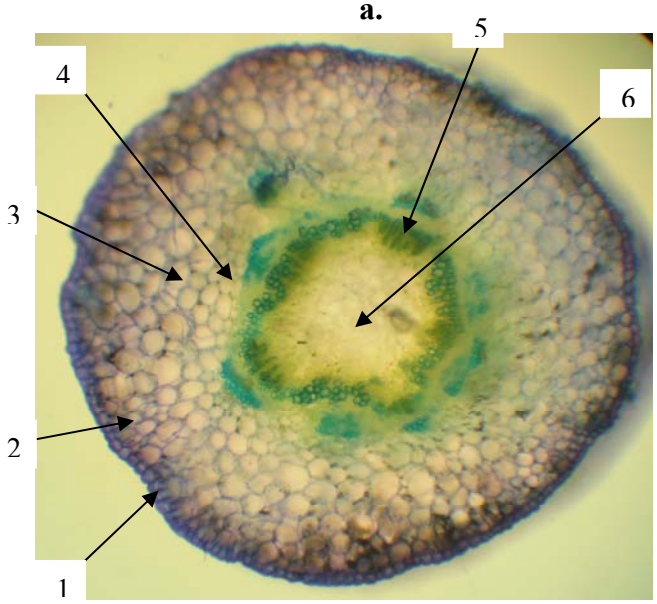
Figura 3.3.5. Prerja tërthore e gjethes së bimëzave të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë (**a**), (**c**) dhe të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet (**b**). 1. Trikomë, **2**. epiderma e sipërme, **3**. parenkima gardhore, **4**. parenkima zgavrore, **5**. tufa përçuese, **6**. epiderma e poshtme, **7**. ind mbështetës - kolenkimë këndore.

- **Organizimi i indeve tek kërcelli i dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen të konservuara *in vitro***

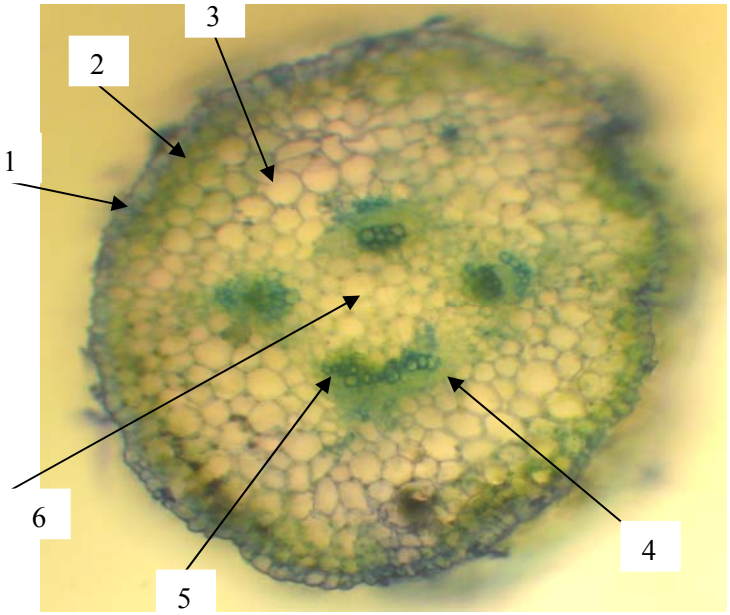
Në prerjen tërthore të kërcellit (Fig. 3.3.6) dallohen: epiderma, qeliza të kolenkimës, parenkima e lëvores, endoderma, tufat përçuese dhe palca. Epiderma është njështresore. Në epidermë ndodhen gojëzat dhe trikomat. Nën epidermë ndodhen qeliza të indit mbështetës - të kolenkimës. Qelizat e parenkimës së lëvores kanë kloroplaste. Shtresa e fumdit të parenkimës së lëvores është endoderma, e cila është njështresore. Ajo është plotësisht e dallueshme në familjen *Asteraceae* (Özörgücü *et al*., 2006). Tufat përçuese janë të tipit kolateral dhe vendosen përbri njëra-tjetrës në një rreth, me floemë të vendosur në anën e jashtme dhe ksilemë në anën e brendshme. Tufat përçuese janë të mbyllura. Palca zë pjesën qëndrore të kërcellit dhe ka formë të rrumbullakët. Qelizat e palcës janë sferike dhe duke shkuar nga qëndra në periferi zvogëlohen.



a.



b.



c.

Figura 3.3.6. Prerja tërthore e kërcellit të bimëzave të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë (**a**), (**c**) dhe të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet (**b**).**1**. epiderma, **2**. qeliza të kolenkimës, **3**. parenkima e lëvores, **4**. Endoderma, **5**. tufat përçuese, **6**. palca.

- **Organizimi i indeve tek rrënja e bimëzave të konservuara *in vitro* të subspecies *Aster albanicus* Degen *paparistoi* Qosja**

Në prerjen tërthore të rrënjës të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë (Fig. 3.3.7) dallohen: qime thithëse, rizoderma, ekzoderma, parenkima e lëvores, endoderma, pericikli, tufa përçuese. Rizoderma përbëhet nga një shtresë njëqelizore. Në rizodermë dallohen qimet thithëse. Nën rizodermë dallohet ekzoderma. Qelizat e ekzodermës janë të puthitura midis tyre. Nën ekzodermë dallohet parenkima e lëvores, e cila zë pjesën më të madhe. Qelizat e parenkimës nuk kanë madhësi të njëjtë nga periferia në drejtim të qendrës. Duke shkuar në drejtim të qendrës, qelizat e parenkimës vijnë duke u zvogëluar. Endoderma përbëhet nga një shtresë qelizash të puthitura midis tyre, që rrethon plotësisht cilindrin qëndror. Pericikli përbëhet nga një shtresë qelizash poshtë endodermës. Nën pericikël ndodhen tufat përçuese të vendosura në një rreth. Tufat e floemës këmbehen me të ksilemës. Në qendër dallohet palca me qeliza parenkimore.

Gjatë studimit vumë re që nuk kemi ndryshime të dukshme në ndërtimin anatomik të organeve e krahasuar me ato të bimëzave *in vitro*. Raportime të ngjashme kemi edhe nga autorë të tjerë *Vriesea inflata* (Pedroso *et al.*, 2010).

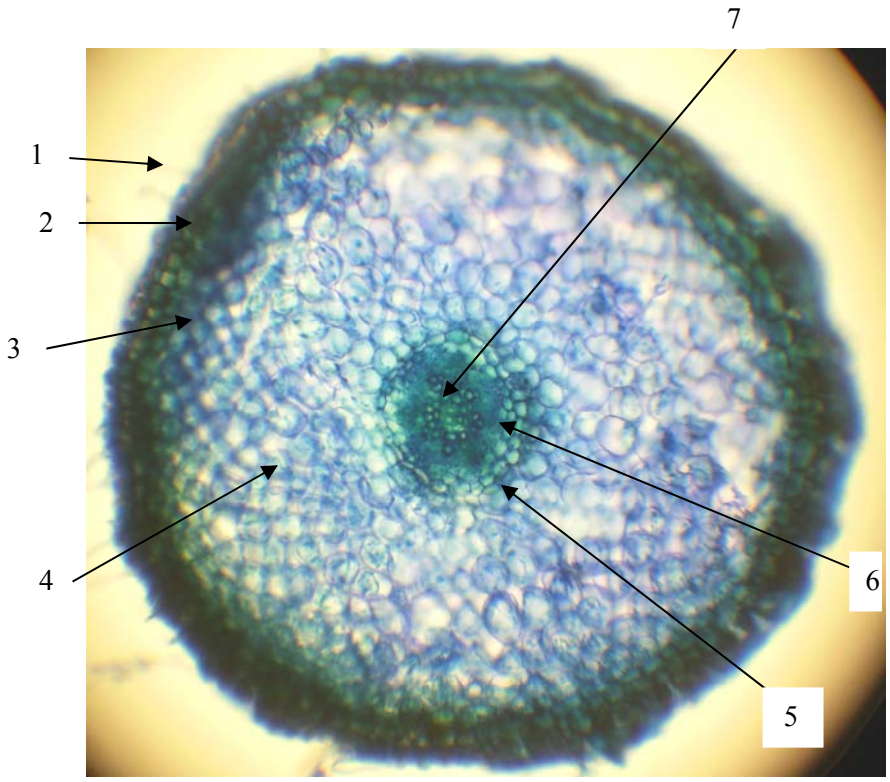


Figura 3.3.7. Prerja tërthore e rrënjës së bimëzave të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë **1**. qime thithëse, **2.** rizoderma, **3.** ekzoderma, **4**. parenkima e lëvores, **5**. endoderma, **6**. Pericikli, **7**. tufë përçuese.

3.4. Histogjeneza e strukturave gjethore të të dy subspecieve

3.4.1. Studimi i kompleksit stomatal

- **Tipi dhe shpërndarja e gojëzave**

Aparati stomatal në epidermën e gjetheve të dy subspecieve (*Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja) dhe të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus*) përfaqësohet nga qelizat e gojëzave dhe qelizat shoqëruese (Fig. 3.4.1 dhe 3.4.2); (Pasqyra 3.4.1 dhe 3.4.2). Qelizat shoqëruese janë prizmatike dhe te vrigëlluara. Bërthama dallohet qartë dhe gjatë vëzhgimit mikroskopik kemi vënë re tek disa qeliza, që bërthama është anash, kurse tek disa të tjera bërthama është në qendër. Këto janë qeliza epidermale në formë të çregullt dhe numri i tyre varion nga katër deri në gjashtë qeliza. Kjo gjë bën që gojëzat të klasifikohen në tipin anomocitik (qelizat shoqëruese rrethojnë në mënyrë rrezore qelizat roje). Ky tip bazohet në klasifikimin e Freire *et al*., 2007. Gojëzat janë të tipit anomocitik edhe në bimët *in vivo* të të dy subspecieve (Zekaj *et al*., 2007). Janë bërë vrojtime të epidermës së poshtme dhe asaj të sipërme të gjetheve të bimëzave *in vitro* dhe të konservuara dhe ato rezultojnë të jenë *amfistomatike* (me aparat stomatal në epidermën e poshtme dhe të sipërme). Në speciet e familjes *Compositae*, gojëzat janë të pranishme në

të dy sipërfaqet (Zarinkamar, 2007). Gjethe të tilla janë raportuar në përfaqësues të tjerë të familjes *Asteraceae* të tilla si: *Richterago riparia* Roque (Melo-de-Pinna *et al.,* 2002), *Rhaponticum carthamoides* (Lotocka & Geszprych, 2004), *Tragopogon dubius & Tragopogon gracilis* (Qureshi *et al*., 2008), *Scorzonera ammophila, Scorzonera picridioides, Scorzonera virgata, Scorzonera hondae & Scorzonera laciniata* (Qureshi *et al*., 2008), *Lucilia nitens* Less (Duarte *et al*., 2011), *Tridex procumbens* Linn. (Yadav & Nayak, 2011), *Dioscorea bulbifera* Linn. (Sonibare & Adeniran, 2014), *Koelpinia linearis* (Al-Tameme, 2014). Gojëzat janë gjetur të jenë të pranishme si në sipërfaqen e sipërme dhe të poshtme në 33 lloje të familjes *Asteraceae* (*Compositae*) në rajonin verior të Bangladeshit (Rahman, 2013).

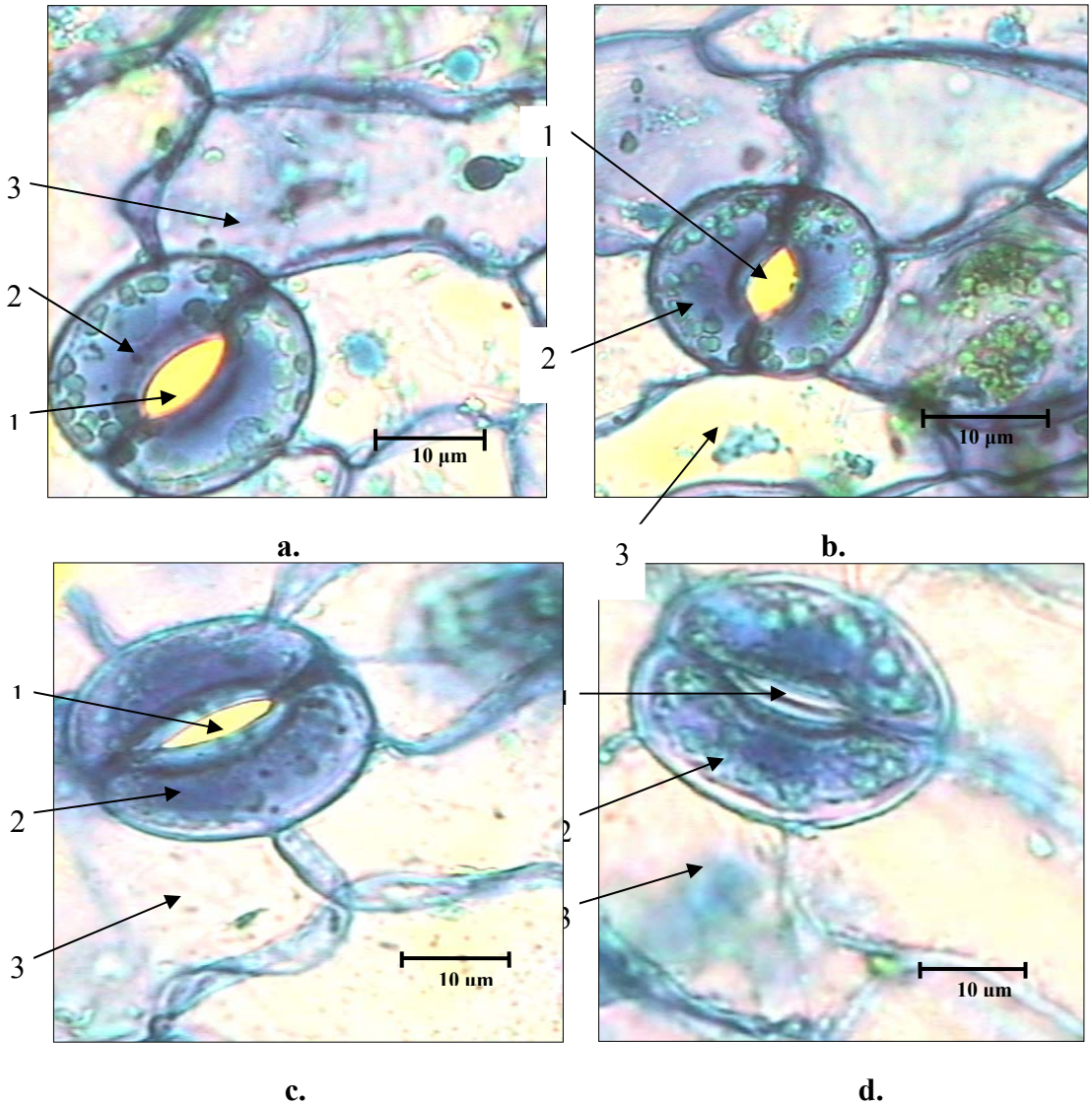


Figura 3.4.1. Aparati stomatal në epidermën e poshtme të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë (**a**) në eksplantet e subkulturës, (**b**) në eksplantet e konservuara dhe të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet (**c**) në eksplantet e subkulturës, (**d**) në eksplantet e konservuara. **1**. Pori, **2**. qelizë gojëzore, **3**. qelizë shoqëruese (epidermale).

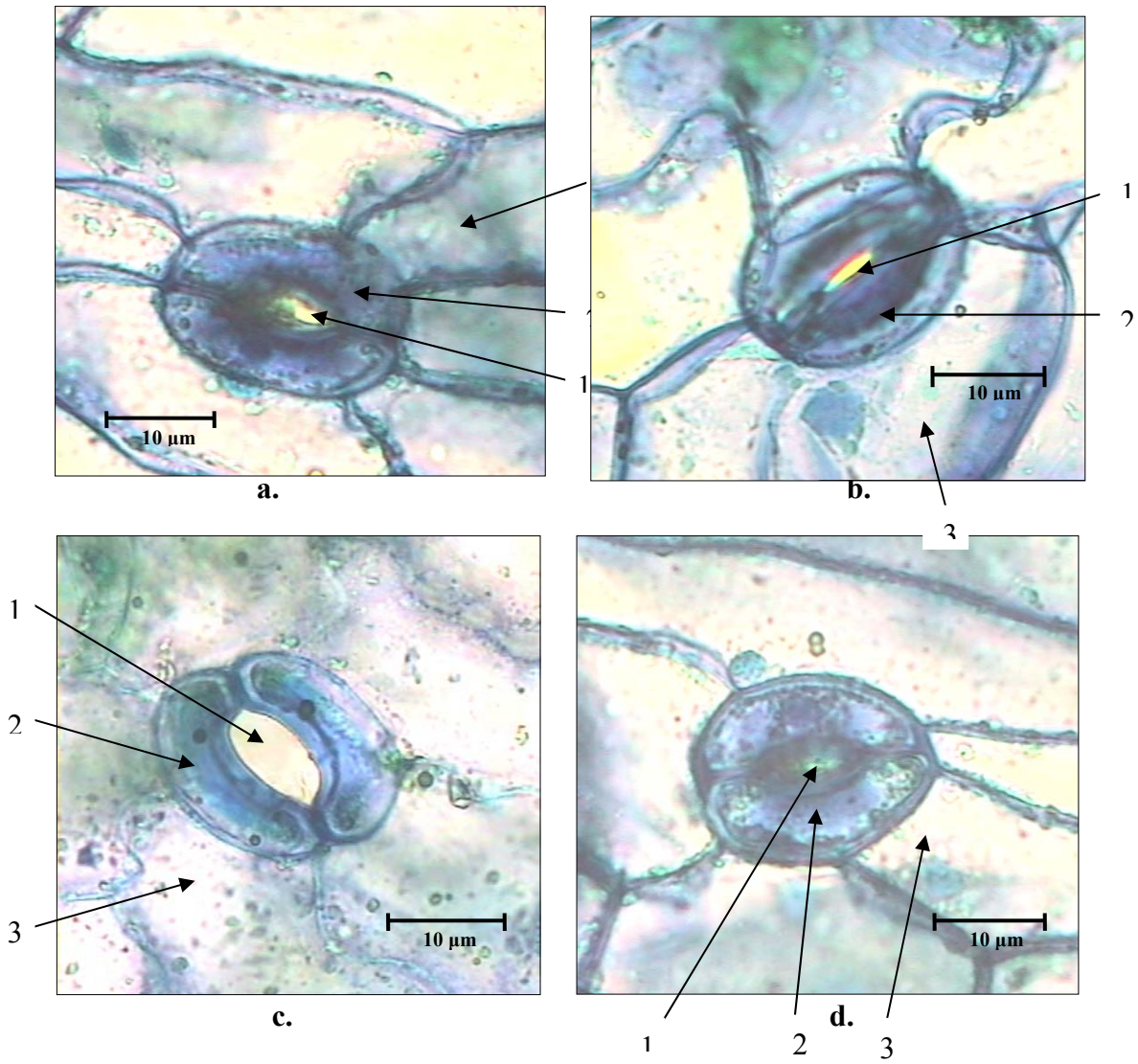


Figura 3.4.2. Aparati stomatal në epidermën e sipërme të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë (**a**) në eksplantet e subkulturës, (**b**) në eksplantet e konservuara dhe të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet (**c**) në eksplantet e subkulturës, (**d**) në eksplantet e konservuara. **1**. Pori, **2**. qelizë gojëzore, **3**. qelizë shoqëruese (epidermale).

Theksojmë se eksplantet e konservuara janë ato me metodën e konservimit me anë të reduktimit të temperaturës dhe të ndriçimit. Kjo metodë ishte efikase për bimëzat e të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen (trajtuar gjerësisht në kapitullin **3.3**).

Tipi i aparatit stomatal konsiderohet si një çelës kyç në taksonomi. Gojëza të tipit anomocitik janë raportuar në familjen *Compositeae* (Metcalfe & Chalk, 1950, 1972, 1979).

Shumë specie të familjes *Asteraceae* kanë aparatin stomatal të tipit anomocitik (Cronquist, 1981). Gjethet e bimëve *in vivo* të dy subspecieve kanë aparat stomatal të tipit anomocitik (Zekaj *et al*., 2007). Rezultati i marrë është në përputhje me raportimet e autorëve të tjerë, ku shumë specie të familjes *Asteraceae* karakterizohen nga gojëza të tipit anomocitik: *Mikania glomerata* Spreng, *Porophyllum ruderale* Cass, *Vernonia condensata* Baker (Milan *et al*., 2006), *Sonchus erzincanicus* Matthews (Kandemir *et al*., 2006), *Ageratum conyzoides, Aspilia africana, Chromolaena odorata & Tridax procumbens* (Unaba *et al*., 2008), *Vermonika amygadlina* Del (Eltahir & AbuEreish, 2011), *Tridex procumbens* Linn. (Yadav & Nayak, 2011), *Blumea laciniata* (Roxb) DC, *Callistephus chinensis* (L.) Nees, *Dahlia variabilis* (Willd) Desf, *Grangea maderaspatana* (Linn) Poir, *Vernonia cinerea* (Linn) Less, *Youngia japonica* (L.) DC (Rahman, 2013) dhe *Dioscorea bulbifera* Linn. (Sonibare & Adeniran, 2014).

Pasqyra 3.4.1. Karakteristikat e gojëzave për kategoritë e ndryshme (*in vitro*, konservim) të bimëzave të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja (Divjakë).

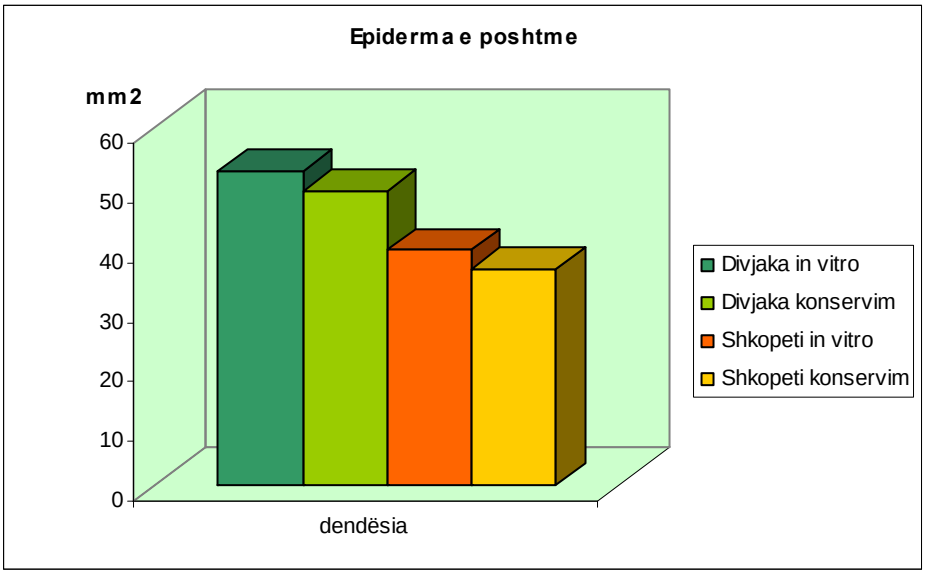
	Epiderma e poshtme		Epiderma e sipërme	
Parametra	subkulturë	të konservuara	subkulturë	të konservuara
Tipi i aparatit stomatal	anomocitik	anomocitik	anomocitik	anomocitik
Nr i qelizave shoqëruese	5	5	5-6	4-5
Gjatësia e gojëzave (mesatarja në µm)	19.56	17.95	22.9	20.31
Gjerësia egojëzave (mesatarja në µm)	17.69	15.76	15.74	13.02
Dendësia mesatare/ mm^2	52.6	49.3	46	42.7

Pasqyra 3.4.1. Karakteristikat e gojëzave për kategoritë e ndryshme (*in vitro*, konservim) të bimëzave të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* (Shkopet).

	Epiderma e poshtme		Epiderma e sipërme	
Parametra	subkulturë	të konservuara	subkulturë	të konservuara
Tipi i aparatit stomatal	anomocitik	anomocitik	anomocitik	anomocitik
Nr i qelizave shoqëruese	5	5	5	5
Gjatësia e gojëzave (mesatarja në µm)	14.97	12.65	16.67	14.45
Gjerësia egojëzave (mesatarja në µm)	12,72	11.44	11.52	10.22
Dendësia mesatare/ mm^2	39.4	36.1	32.83	29.56

- **Dendësia stomatale/mm^2**

Numërimi i gojëzave është realizuar për fushë mikroskopike (40x) dhe prej këtej është njehsuar dendësia stomatale/mm^2. Siç e tregon Grafiku 3.4.1 për të dy subspeciet, densiteti stomatal në epidermën e poshtme të gjetheve zvogëlohet në bimëzat e konservuara në krahasim me bimëzat *in vitro*. Ajo që vihet re për të dy llojet e eksplanteve (*in vitro* dhe të konservuara) është se densiteti stomatal në epidermën e poshtme të gjetheve është më i lartë tek *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë në krahasim me *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet (Pasqyra 3.4.1 dhe 3.4.2).

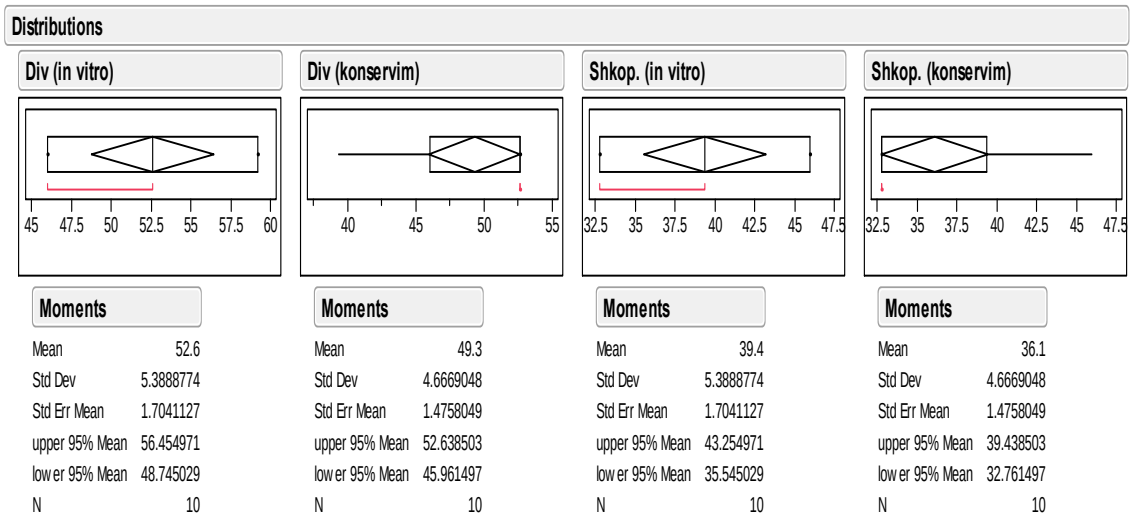


Grafiku 3.4.1. Dendësia stomatale në epidermën e poshtme të gjetheve, të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen, në bimëzat e subkulturës dhe në bimëzat e konservuara.

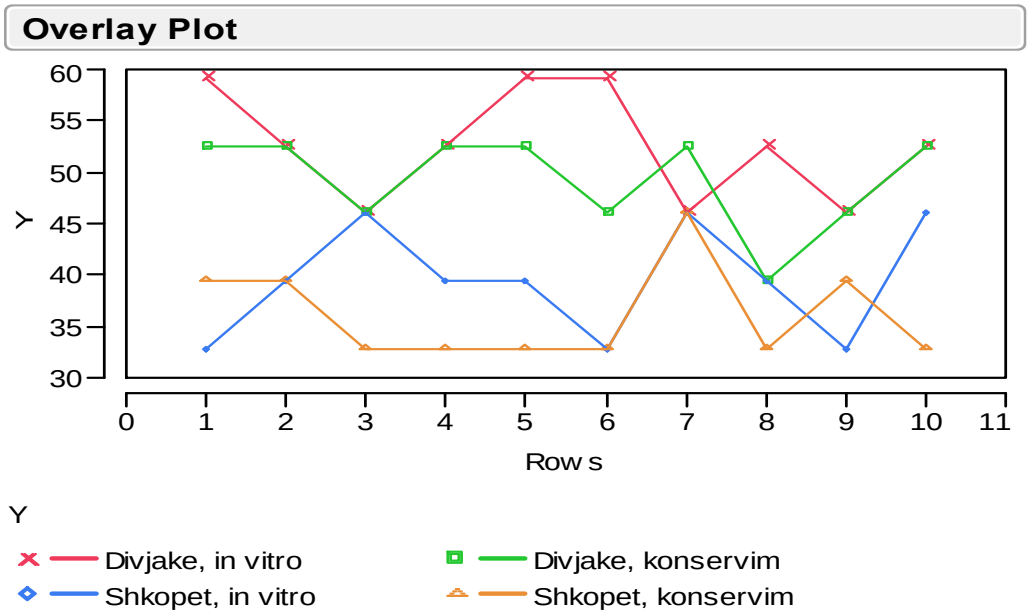
- **Përpunimi statisikor**

Studimi i të dhënave për dendësinë stomatale në epidermën e poshtme paraqet rezultate interesante krahasueshmërie. Kështu, tek të dy subspeciet paraqitet një epërsi mesatare me gati 3 njësi tek bimëzat e subkulturës kundrejt bimëzat të konservuara. Ndërkohë që dendësia stomatale nga një subspecie në tjetrën ka një ndryshim prej 10-13 njësi. Këtë parametër e kanë më të lartë bimët e *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë.

Grafikët 3.4.2 dhe Pasqyra 3.4.3 tregojnë për një paqëndrueshmëri të nivelit të dendësisë stomatale nga njëra subspecie në tjetrën, gjë që shprehet me nivelin e lartë të deviacionit standard (4.66-5.38), që rezulton nga vrojtim i bërë mbi këtë tipar.

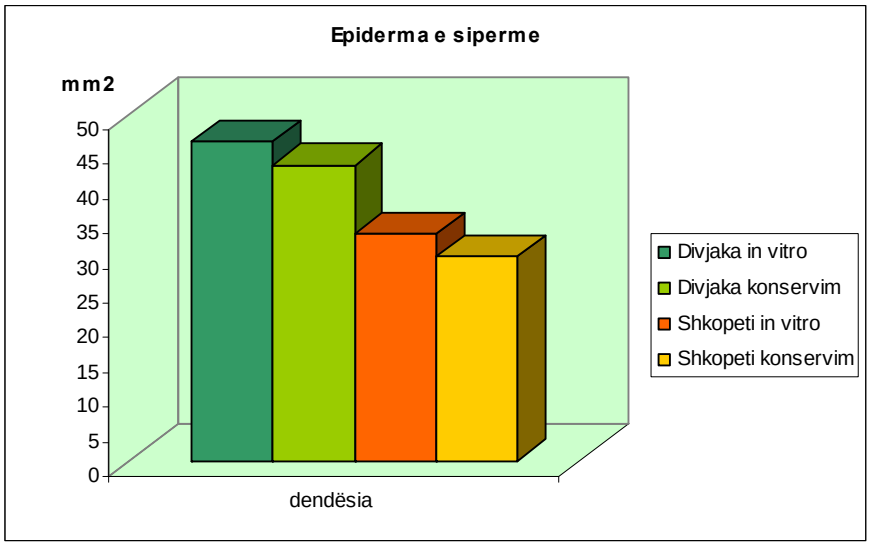


Grafiku 3.4.2. Karakteristikat numerike të dendësisë stomatale për epidermën e poshtme të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen.



Grafiku 3.4.3. Grafiku i shpërndarjes të dendësisë stomatale për epidermën e poshtme të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen.

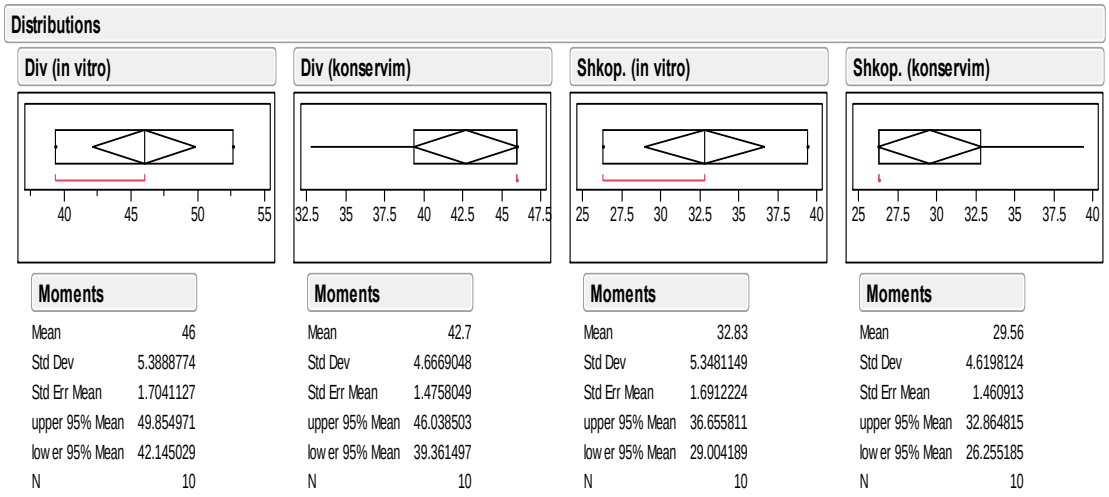
Siç e tregon Grafiku 3.4.4 për të dy subspeciet, dendësisia stomatale në epidermën e sipërme të gjetheve zvogëlohet në bimëzat e konservuara në krahasim me bimëzat *in vitro*. Ajo që vihet re për të dy llojet e eksplanteve (*in vitro* dhe te konservuara) është se dendësisia stomatale në epidermën e sipërme të gjetheve është më i lartë tek *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë në krahasim me *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet.E njëjta situatë paraqitej në epidermën e poshtme të gjetheve të të dy subspecieve (Pasqyra 3.4.1 dhe 3.4.2).



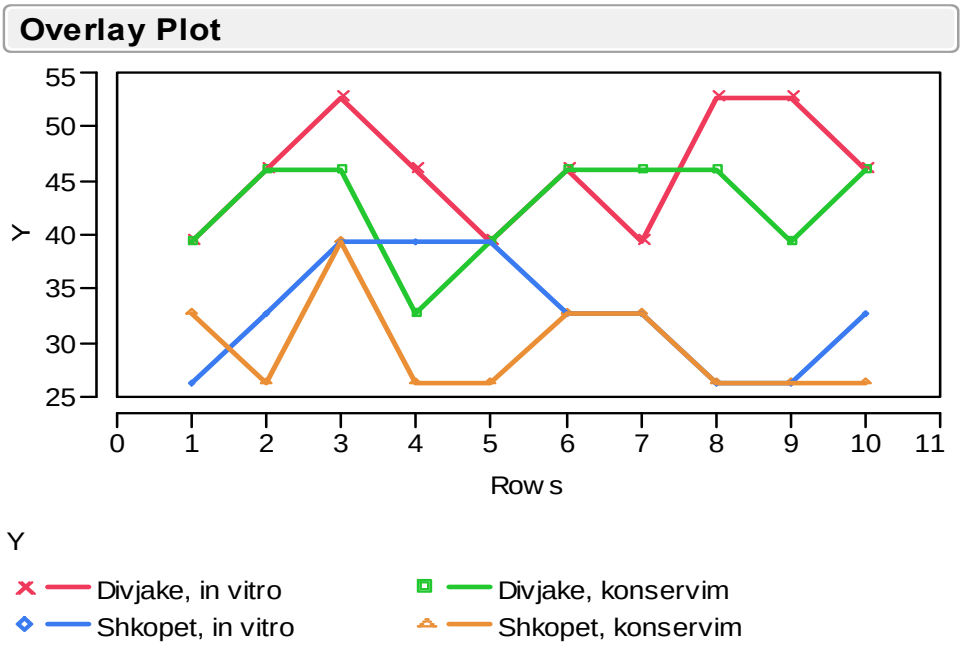
Grafiku 3.4.4. Dendësia stomatale në epidermën e sipërme të gjetheve , të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen, në bimëzat e subkulturës dhe në bimëzat e konservuara.

- **Përpunimi statisikor**

E njëjta situatë paraqitet për dendësinë stomatale në epidermën e sipërme përsa i përket krahasimit ndërmjet të dy subspecieve duke ruajtur nivelin prej 3 njësish të ndryshueshmërisë së mesatareve, ndërkohë që mesatarja per çdo subspecie zbret me gati 7 njësi për secilin rast. Deviacioni standard edhe këtu ruan nivele të njëjta të larta (4.61-5.34), gjë që reflektohet në paraqitjen grafike të vrojtimit të pasqyruar në Grafikët 3.4.5 dhe 3.4.6.



Grafiku 3.4.5. Karakteristikat numerike të shpërndarjes të dendësisë stomatale për epidermën e sipërme të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen.



Grafiku 3.4.6. Grafiku i shpërndarjes të dendësisë stomatale për epidermën e sipërme të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen.

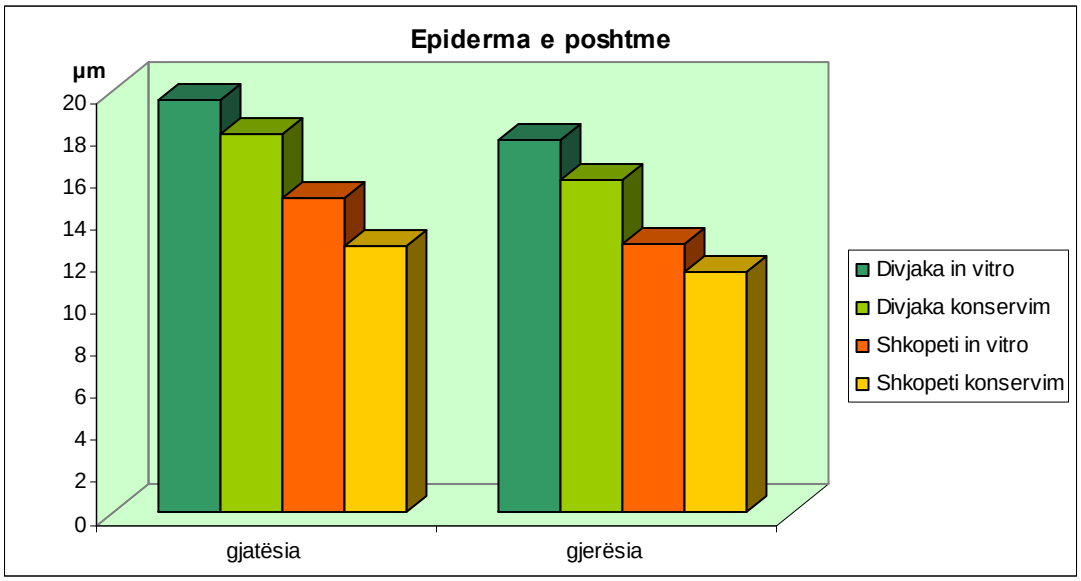
Ndriçimi është faktor kyç që luan rol në dendësinë stomatale. Raportimet mbi efektin e ndriçimit në dendësinë stomatale të bimëve të kafesë (*Coffea arabica*) të rritura në diell dhe në hije (Pompelli *et al*., 2010) paraqesin të dhëna mbi dendësinë stomatale. Dendësia stomatale ulet shumë me uljen e ndriçimit (Pallardy *et al*., 1979) duke bërë që ndriçimi të jetë një ndër faktorët kryesorë që luajnë rol në zhvillimin stomatal. Për të dy subspeciet rezulton se në bimëzat *in vitro* dendësia stomatale është më e lartë në krahasim me bimëzat e konservuara me metodën e reduktimit të temperaturës dhe të ndriçimit.

Ajo që vihet re në të dyja subspeciet e mara në studim është se dendësia stomatale në epidermën e poshtme është më e madhe se në epidermën e sipërme të gjetheve. Rezultati i marrë është në përputhje me raportimet e autorëve të tjerë. Sipas Eames (1947), gojëzat në gjethet e bimëve drurore (*amfistomatike*) janë më të shpeshta në sipërfaqen e poshtme sesa në sipërfaqen e sipërme. Kjo tendencë është më e madhe se në bimët barishtore. Për familjen *Asteraceae* është raportuar nga Metcalfe & Chalk, 1950. Në familjen *Compositeae* (Zarinkamar, 2007; Eltahir & AbuEReish, 2011), dendësia stomatale është më e lartë në sipërfaqet e poshtme të gjethorëve se ato të sipërfaqeve të sipërme, me disa përjashtime (*Achillea* dhe *Anthemis*). Sipas raportimeve të autorëve të tjerë, dendësia stomatale e bimëzave të dy subspecieve është shumë pranë rezultateve të specieve të tjera të gjinisë *Aster* si: *Senecio* genre (Cristescu *et al.,* 2012), *Aster ehispidus* var. *hispidus*, *A. hispidus* var. *leptocladus* dhe *A. hispidus* var. *insularis* **(**Kumekawal *et al*., 2013). Përsa i përket dendësisë stomatale e krahasuar midis dy subspecive, ajo që vihet re është se bimëzat e *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* e kanë dendësinë më të ulët se bimëzat e *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja. Theksojmë se bimët *in vivo* të *A. albanicus* subsp.*albanicus* rriten në shkëmbinj serpentinorë dhe të *A. albanicus* subsp. *paparistoi* Qosja rriten në zonat ranore të bregdetit. Ky rezultat është në përputhje me rezultatet e autorëve të tjerë (Ohga *et al*., 2012; Kumekawal *et al*., 2013) ku kemi rënie të

numrit të gojëzave në bimët që rriten në shkëmbinj serpentinorë në krahasim me bimët që rriten në zonat ranore të bregdetit apo në kushte normale. Kjo ndodh për faktin se zvogëlimi i numrit të gojëzave është një mënyrë përshtatje e bimëve në mjediset e thata.

- **Dimensionet e gojëzave**

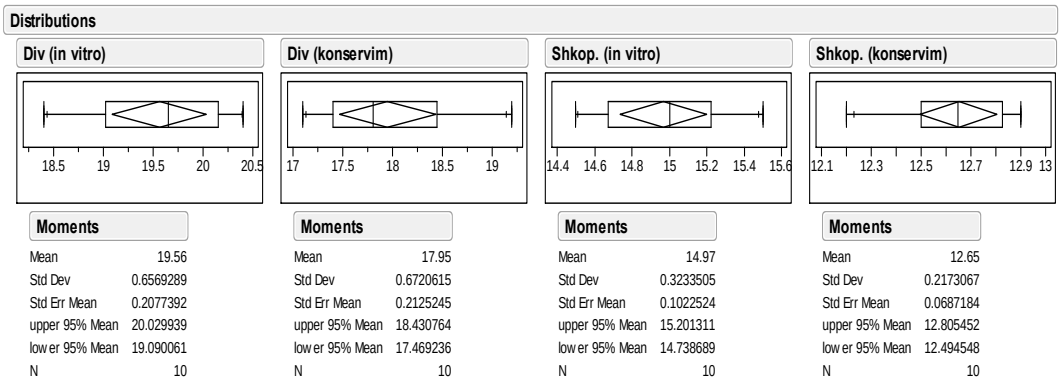
Për të dy subspeciet në studim janë matur dimensionet e gojëzave (gjatësia dhe gjerësia). Siç e tregon Grafiku 3.4.7, dimensionet e gojëzave në epidermën e poshtme të gjetheve zvogëlohen në bimëzat e konservuara në krahasim me bimëzat *in vitro.* Ajo që vihet re për të dy llojet e eksplanteve (*in vitro* dhe te konservuara) është se dimensioni i gojëzave në epidermën e poshtme të gjetheve është më i lartë tek *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë në krahasim me *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet (Pasqyra 3.4.1 dhe 3.4.2).



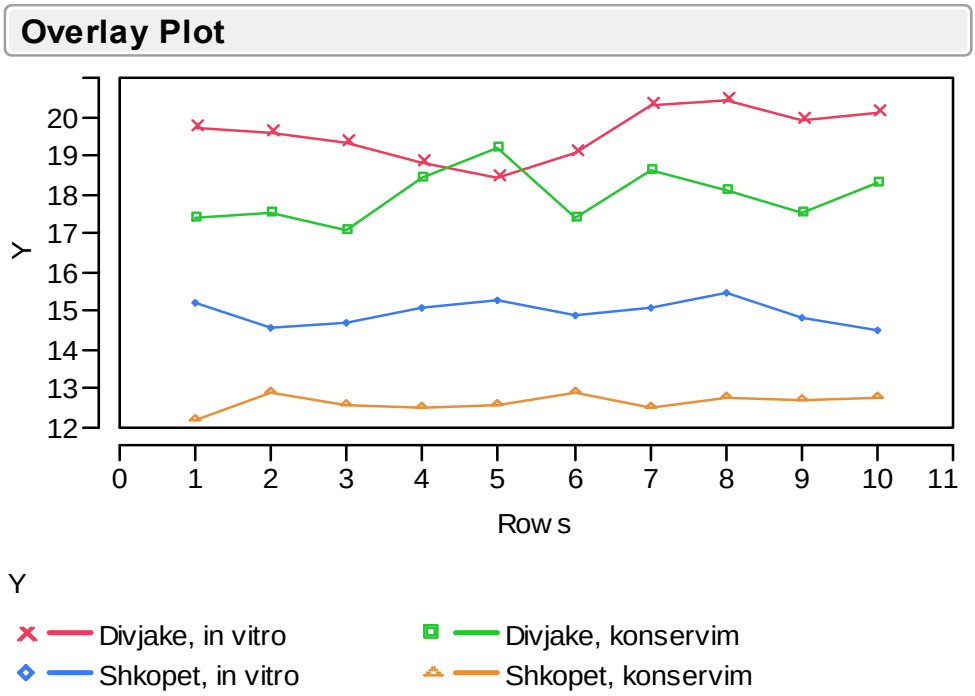
Grafiku 3.4.7. Dimensionet e gojëzave në epidermën e poshtme të gjetheve, të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen, në bimëzat e subkulturës dhe në bimëzat e konservuara.

- **Përpunimi statisikor**

Përpunimi i të dhënave me anë të programit JMP përfundon në një tendencë të uljes së mesatares së gjatësisë së gojëzave duke vendosur në vend të parë bimëzat *in vitro* të Divjakës dhe në fund bimëzat e konservuara të Shkopetit. Nga grafikët 3.4.8 dhe 3.4.9, shihet se deviacioni standard për popullatën e Divjakës (0.61-0.65) është dyfish më i lartë se deviacioni standard për popullatën e Shkopetit (0.21-0.32), por kjo nuk ndikon në trendin e mesatares dhe të vrojtimeve individuale.

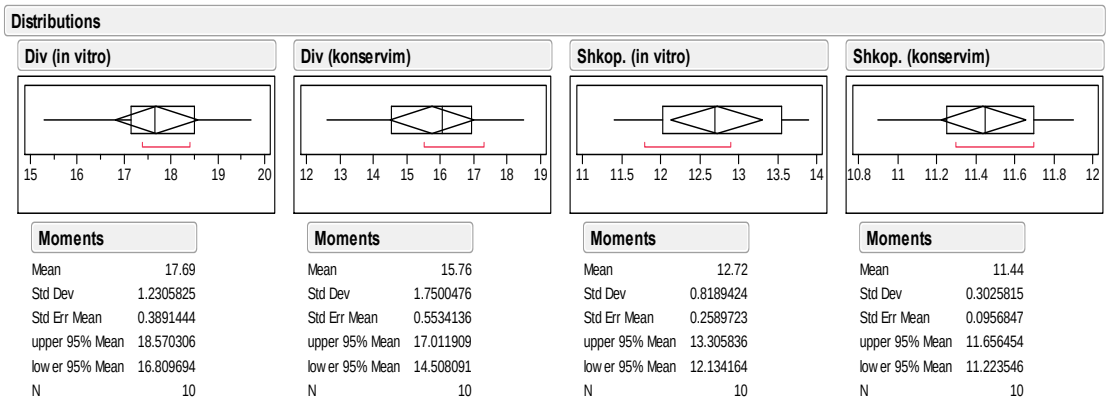


Grafiku 3.4.8. Karakteristikat numerike të shpërndarjes të gjatësisë së gojëzave, për epidermën e poshtme të gjetheve të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen.

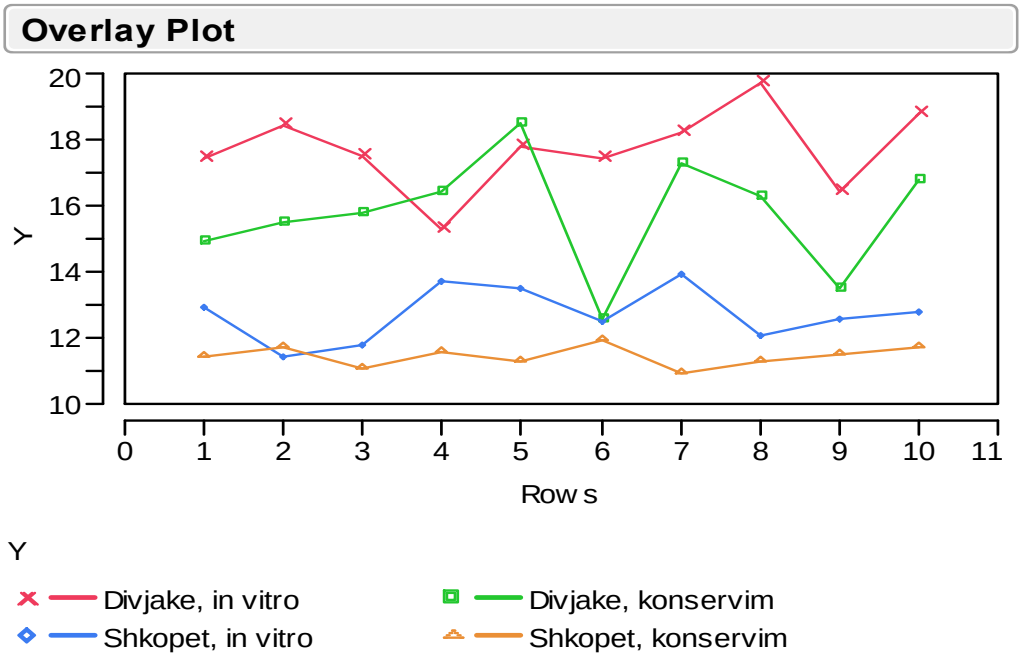


Grafiku 3.4.9. Grafiku i shpërndarjes së gjatësisë së gojëzave për epidermën e poshtme të gjetheve të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen.

Analiza e të dhënave të vrojtuara për gjerësinë e gojëzave të epidermës së poshtme në të dy subspeciet, përcakton një renditje të njëjtë në lidhje me bimëzat sikurse edhe gjatësia, por për këtë tipar vihet re gjithashtu edhe një nivel i lartë i deviacionit standard sidomos për popullatën e Divjakës për të dy terrenet (Grafiku 3.4.10: 1.23 për *in vitro* dhe 1.75 për konservimin).



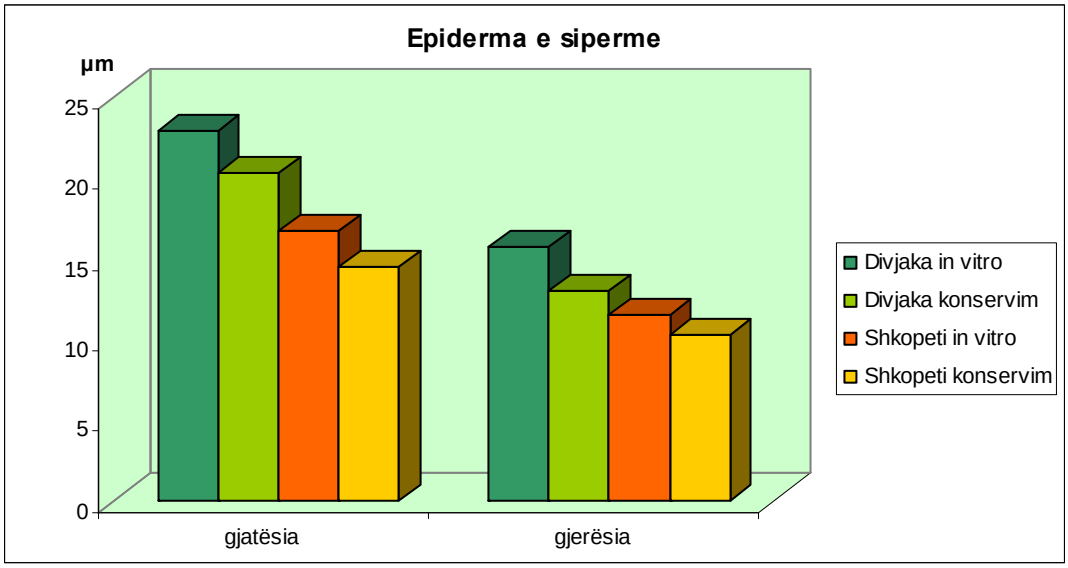
Grafiku 3.4.10. Karakteristikat numerike të shpërndarjes për gjerësinë e gojëzave në epidermën e poshtme të gjetheve të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen.



Grafiku 3.4.11. Grafiku i shpërndarjes së gjerësisë së gojëzave për epidermën e poshtme të gjetheve të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen.

Siç e tregon Grafiku 3.4.12, dimensionet e gojëzave në epidermën e sipërme të gjetheve zvogëlohen në bimëzat e konservuara në krahësim me bimëzat *in vitro*. Ajo që vihet re për të dy llojet e eksplanteve (*in vitro* dhe të konservuara) është se dimensioni i gojëzave në epidermën e sipërme të gjetheve është më i lartë tek *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë në krahasim me *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus*

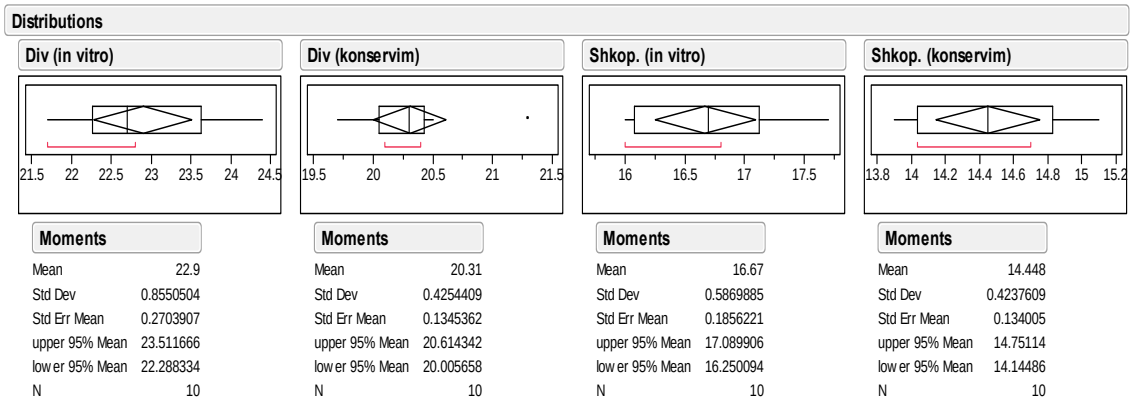
Shkopet. E njëjta situatë paraqitej në epidermën e poshtme të gjetheve të të dy subspecieve (Pasqyra 3.4.1 dhe 3.4.2).



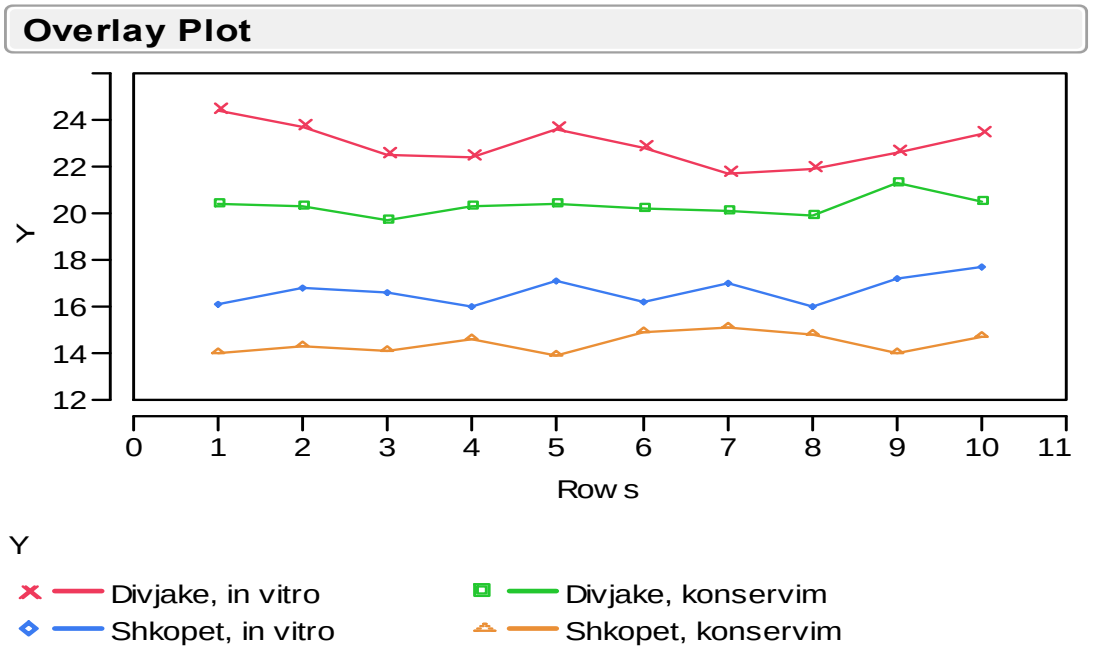
Grafiku 3.4.12. Dimensionet e gojëzave në epidermën e sipërme të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen, në bimëzat e subkulturës dhe në bimëzat e konservuara.

- **Përpunimi statisikor**

Për epidermën e sipërme, studimi i të dhënave të vrojtuara me metoden JMP paraqet një situatë të qëndrueshme të gjatësisë së gojëzave përsa i përket niveleve të deviacionit standard duke ruajtur një renditje të mesatareve për subspeciet dhe terrenet ashtu sikurse për të dhënat e vrojtuara në epidermën e poshtme (Grafiku 3.4.13 dhe Grafiku 3.4.14).

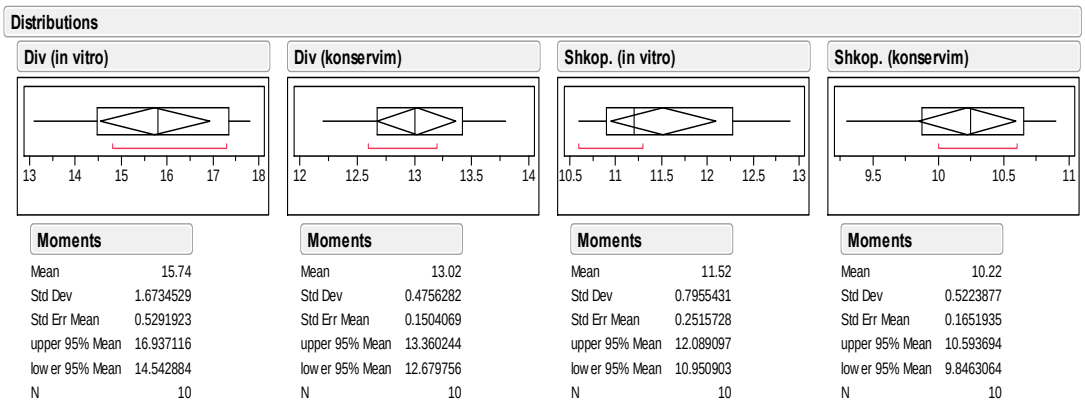


Grafiku 3.4.13. Karakteristikat numerike të shpërndarjes së gjatësisë së gojëzave për epidermën e sipërme të gjetheve të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen.

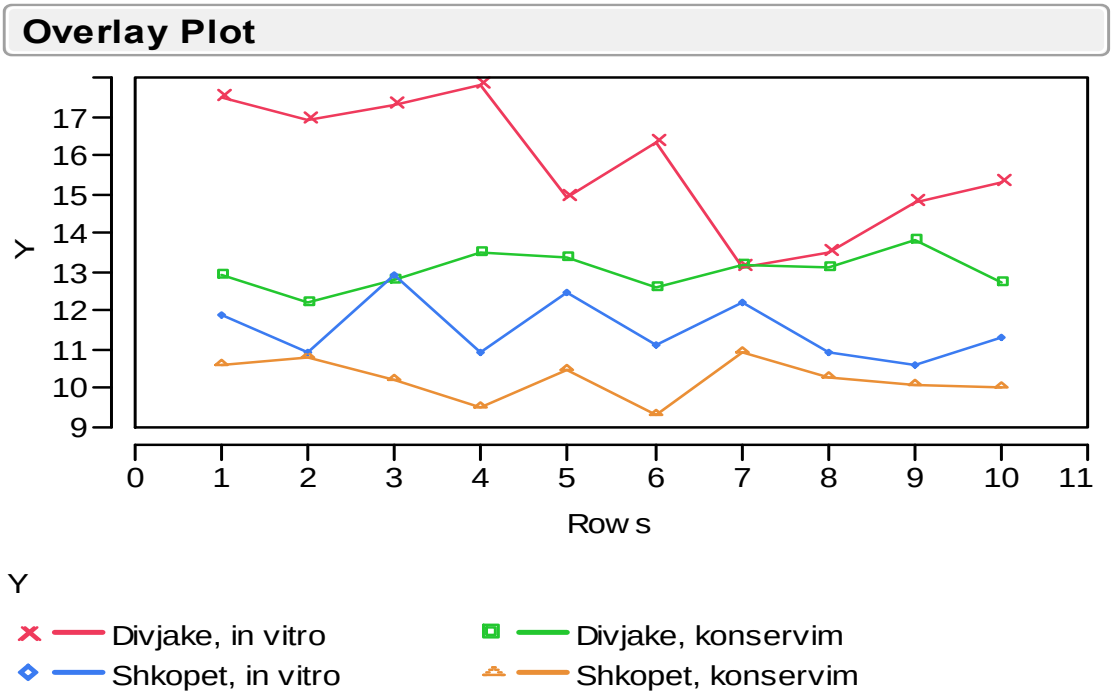


Grafiku 3.4.14. Grafiku i shpërndarjes së gjatësisë së gojëzave për epidermën e sipërme të gjetheve të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen.

Gjerësia e gojëzave për epidermën e sipërme, sikurse shihet në Grafikun 3.4.15, shfaq një nivel të lartë të deviacionit standard për bimëzat e subkulturës të Divjakës (rreth 1.67), por duke ruajtur një nivel të njëjtë epërsie për mesataren në krahasim me bimëzat e konservuara dhe me bimëzat e subkulturës dhe të konservuara të Shkopetit.



Grafiku 3.4.15. Karakteristikat numerike të vrojtimit për gjerësinë e gojëzave në epidermën e sipërme të gjetheve të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen.



Grafiku 3.4.16. Grafiku i shpërndarjes së gjerësisë së gojëzave për epidermën e sipërme të gjetheve të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen.

Madhësia dhe forma e gojëzave janë karakteristika të rëndësishme taksonomike (Thair & Rajput, 2009). Ajo që vihet re në të dy subspeciet e mara në studim është se dimensionet e gojëzave në epidermën e poshtme të gjetheve janë më të mëdha se në epidermën e sipërme. Rezultati i marrë është në përputhje me raportimet e autorëve të tjerë (Zarinkamar, 2007), në *Compositae* (Centaurea, *Hieracium*, *Tragopogon* dhe *Tanacetum*). Në specie të familjes *Asteraceae* si: *Cichorium intybus* L., *Tragopogon latifolius* Boiss. & *Tussilago farfara* L. (Akçin, 2007), *Sonchus erzincanicus* Matthews (Kandemir *et al*., 2006), *Vernonia amygadlina* Del (Eltahir & AbuEReish, 2011), *Bactris gasipaes* (KD Batagin-Piotto, 2012), *Eclipta alba* (L.) Hassk, *Parthenium hysterophorous* L. (Khan *et al*., 2013), *Dioscorea bulbifera* Linn. (Sonibare & Adeniran, 2014). Të dhënat tregojnë që dimensionet e gojëzave në bimëzat e konservuara janë më të vogla se në bimëzat *in vitro*. Përsa i përket formës, gojëzat e epidermave të poshtme kanë qeliza roje të rrumbullakosura, kurse ato të epidermave të sipërme kanë qeliza roje eliptike. Ka edhe raportime nga autorë të tjerë (Metcalfe & Chalk, 1950), *Koelpinia linearis* (Al-Tameme, 2014).

3.4.2. Tipi i trikomave

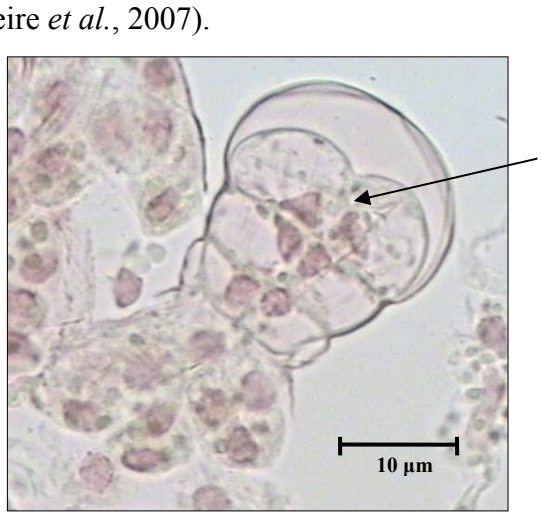
Analiza e numrit, llojit dhe dimensioneve të gojëzave gjithnjë e më shpesh po përdoret si një dekor i shpejtë për vrojtimin e egzistencës së ndryshimeve në popullatat e një specie në studim. Këta tregues nuk shihen si të vetëm dhe përcaktues, por të shoqëruar edhe me

të tjerë si psh ne rastin tonë me trikomat (Radford *et al.*, 1974; Nadkarni & Chopra, 2002; Rajput, 2002). Tipi dhe numri i trikomave në bimë është në lidhje të ngushtë me kushtet mjedisore (Freire *et al.,* 2007; Zekaj *et al.,* 2007). Trikomat, ashtu sikurse dhe kutikula dhe gojëzat janë shumë të ndryshueshme në varësi të kushteve në të cila ekspozohet bima (Ellis, 1976; Silva *et al.,* 2005). Duke pasur parasysh rolin mbrojtës ndaj artropodëve, transpirimit apo rrezatimit UV, është e kuptueshme prania e lartë e tyre në bimëzat e rritura *in vivo*.

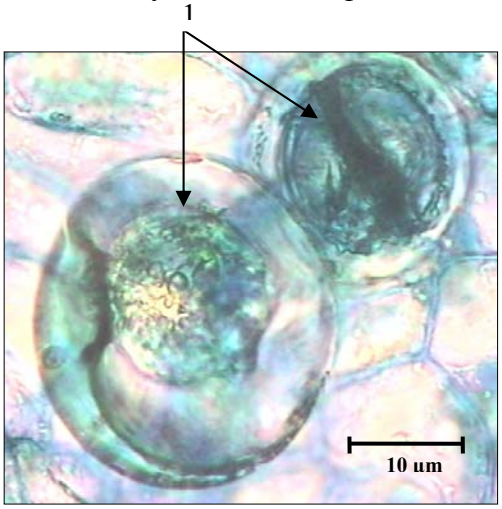
Për të dy subspeciet vrojtohen dy llojet e trikomave: trikomat jo gjëndërore dhe trikomat gjëndërore. Këto trikoma vrojtohen në të dy epidermat e gjethes (në të poshtmen dhe të sipërmen) dhe në dy lloj eksplantesh (të subkulturës dhe të konservuara). Të gjitha llojet e trikomave të vrojtuara janë të pranishme në epidermat e gjetheve të bimëve *in vivo* të dy subspecieve (Zekaj *et al.*, 2007).

- Për epidermën e poshtme:

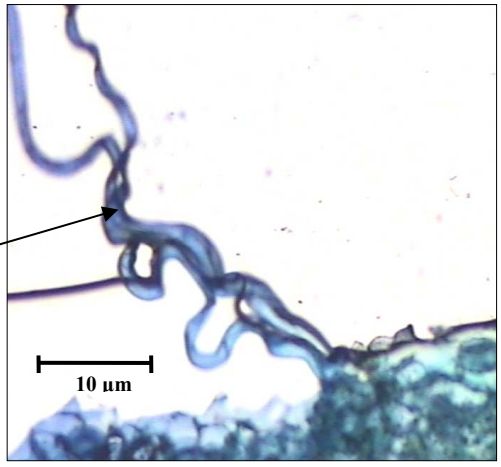
Trikomat jo gjëndërore janë të tipit *moliniforme* (Fig. 3.4.3, c,e,g,i). Trikomat gjëndërore janë të tipit *bulbiforme* [me këmbëzë të shkurtër (Fig. 3.4.3, a) dhe me këmbëzë të gjatë (Fig. 3.4.3, f)] dhe *peltate* (Fig. 3.4.3, b,d,h). Përcaktimi i tyre bazohet në përcaktimin nga (Freire *et al.*, 2007).



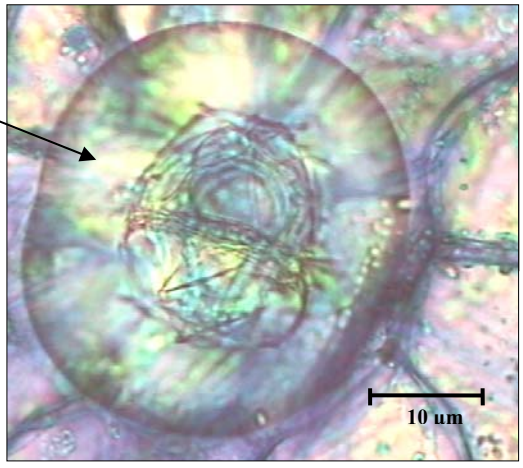
a.



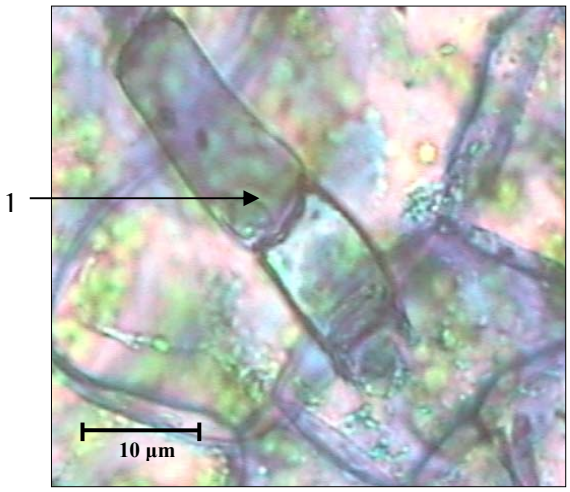
b.



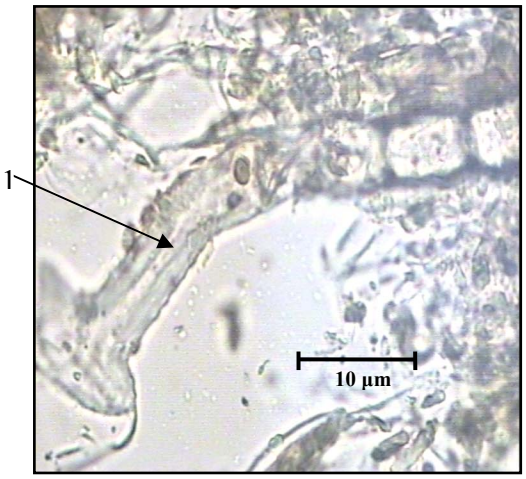
c.



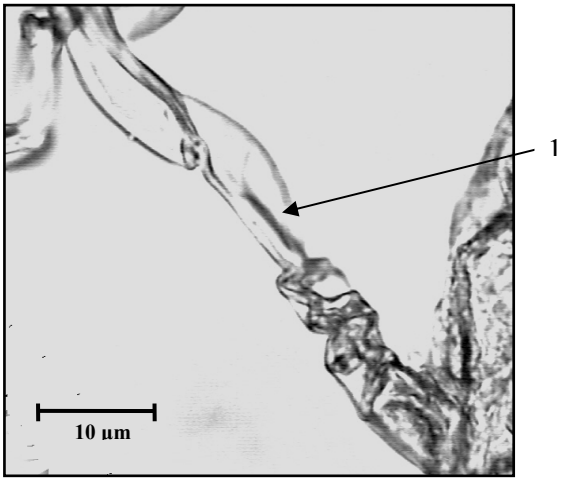
d.



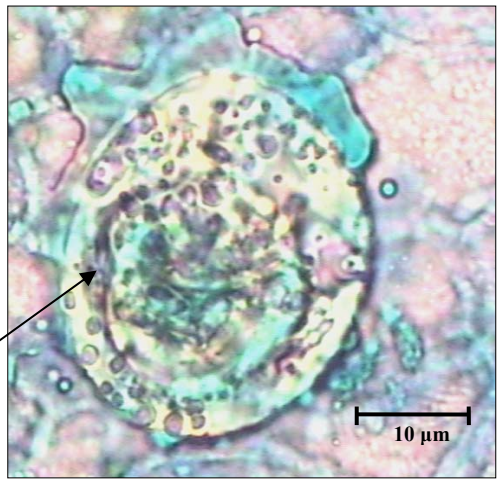
e.



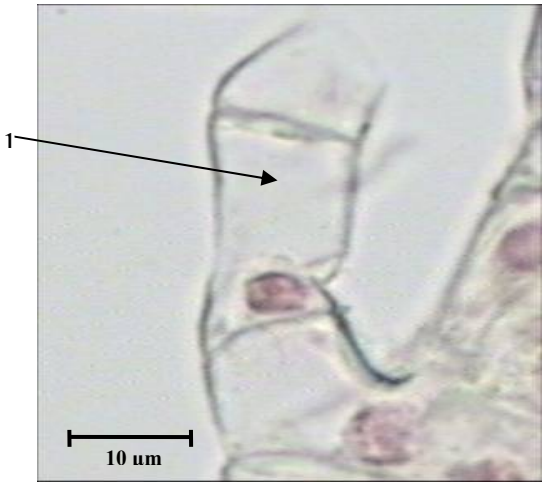
f.



g.



h.

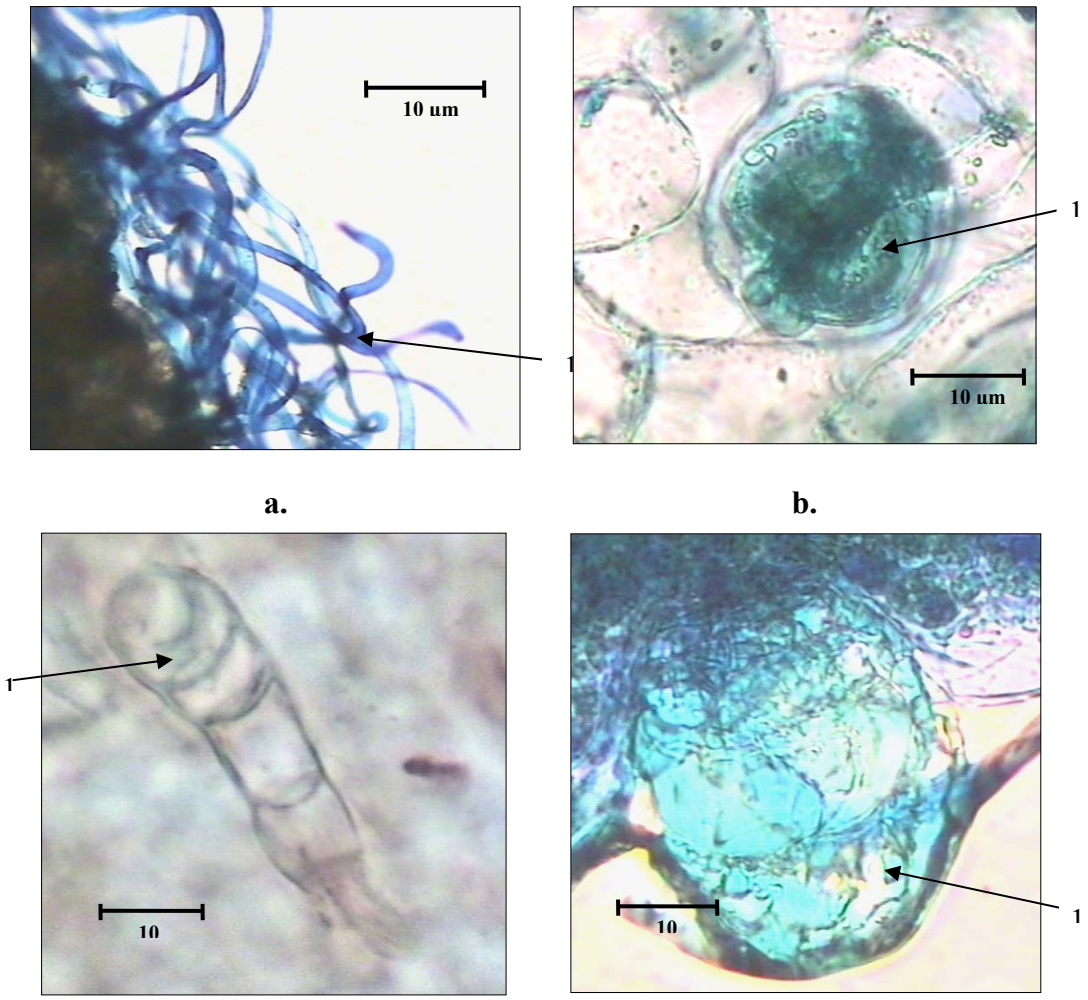


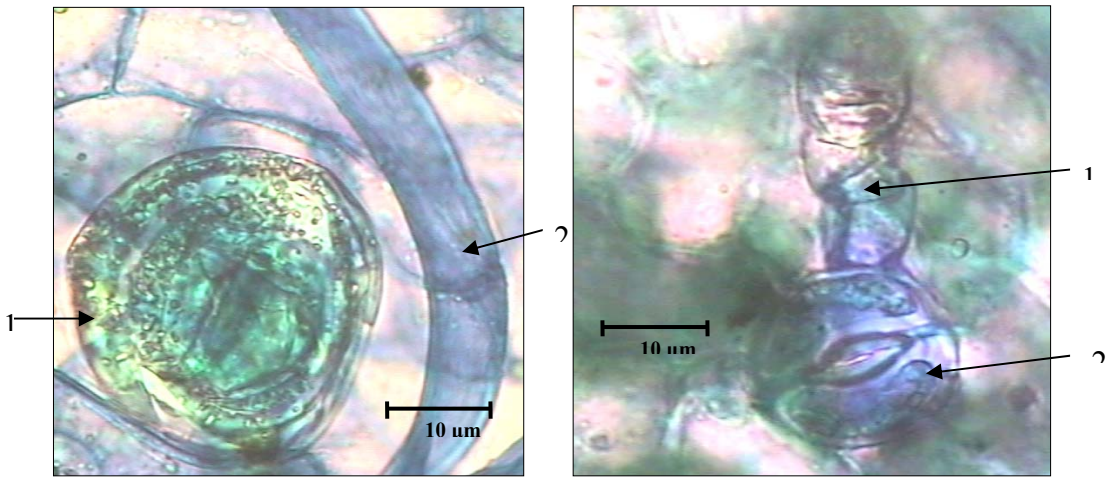
i.

Figura 3.4.3. Trikomat në epidermën e poshtme të gjetheve të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë: (**a**),(**b**),(**c**) në bimëzat e subkulturës; (**d**),(**e**) në bimëzat e konservuara dhe të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet: (**f**),(**g**) në bimëzat e subkulturës; (**h**),(**i**) në bimëzat e konservuara.

- Për epidermën e sipërme:

Trikomat jo gjëndërore janë të tipit *moliniforme* (Fig. 3.4.1, a,c,e,f). Trikomat gjëndërore janë të tipit *peltate* (Fig. 3.4.1, b,d,e). Përcaktimi i tyre bazohet në përcaktimin nga (Freire *et al.*, 2007).





e. **f.**

Figura 3.4.4. Trikomat në epidermën e sipërme të gjetheve të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë: (**a**),(**b**) në bimëzat e subkulturës; (**c**),(**d**) në bimëzat e konservuara dhe të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet: (**e**) në bimëzat e subkulturës, (**f**) në bimëzat e konservuara.

Llojet e trikomave të vrojtuara në të dy subspeciet e mara në studim janë në përputhje me raportimet e autorëve të tjerë. Në gjethet e shtatëdhjetë e dy llojeve të familjes *Asteraceae* u konstatuan lloje të ndryshme të trikomave granulare dhe jogranulare, por më të shpeshta llojet *moliniforme* dhe *peltate* (Castro *et al*., 1997; Saha & Mukherjee, 2012). Krak & Mraz (2008) e kanë përdorur morfologjinë e trikomave për klasifikimin e *Lactuceae* (*Asteraceae*). Në studimet epidermike të gjetheve të dymbëdhjetë specieve në familjen *Asteraceae* në Nigeri janë vrojtuar lloje të ndryshme të trikomave granulare dhe jogranulare (Adedeji, 2008). Trikoma granulare dhe jogranulare janë vrojtuar në shumë specie të familjes *Asteraceae* si: *Richterago riparia* Roque (Melo-de-Pinna *et al.,* 2002)*, Rhaponticum carthamoides* (Lotocka &. Geszprych., 2004), *Iris Britannica & Iris germanica* (Toma *et al*., 2010), *Vernonia amygadlina* Del (Eltahir & AbuEReish, 2011), *Lucilia nitens* Less (Duarte *et al*., 2011), *Tridex procumbens* (Yadav & Nayak, 2011), *Bactris gasipaes* (KD Batagin-Piotto, 2012), *Ageratum conyzoides* Linn (Rahman, 2013), *Helianthus* (*Asteraceae*)-(Aschenbrenner *et al*., 2013), *Dioscorea bulbifera* Linn. (Sonibare & Adeniran, 2014).

Gojëzat dhe trikomat ndodhen edhe në epidermën e kërcellit të dy subspecieve. Aparati stomatal në epidermën e kërcellit (Fig. 3.4.5, a), përfaqësohet nga qelizat e gojëzave dhe qelizat shoqëruese (si në epidermën e gjethes). Numri i qelizave shoqëruese varion nga katër deri në pesë. Në epidermën e kërcellit vrojtohen dy llojet e trikomave: trikomat jo gjëndërore dhe trikomat gjëndërore. Trikomat jo gjëndërore janë të tipit *moliniforme* (Fig. 3.4.5, d). Trikomat gjëndërore janë të tipit *bulbiforme* me këmbëzë të shkurtër (Fig. 3.4.5, c) dhe *peltate biseriate* (Fig. 3.4.5, b).

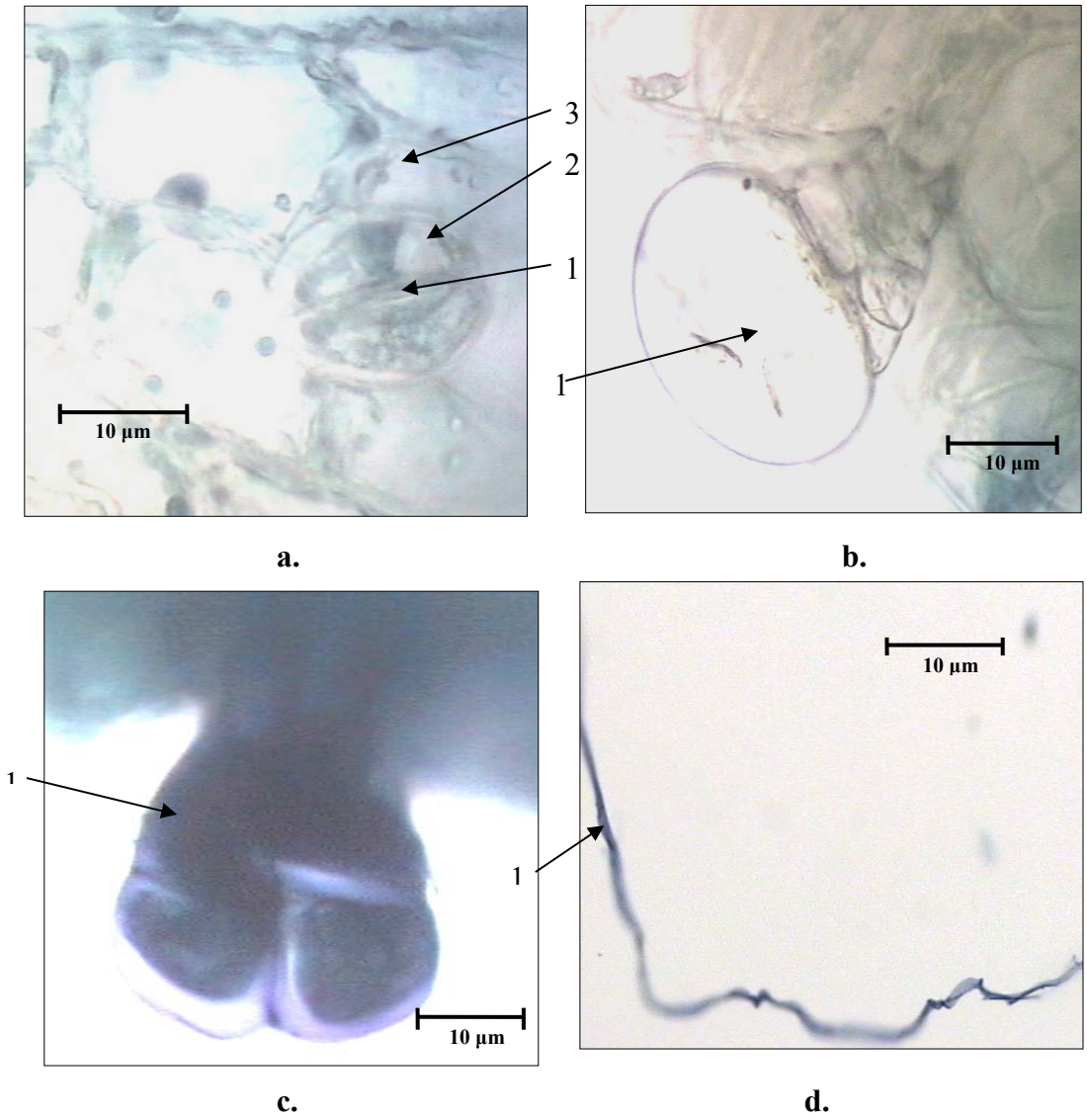
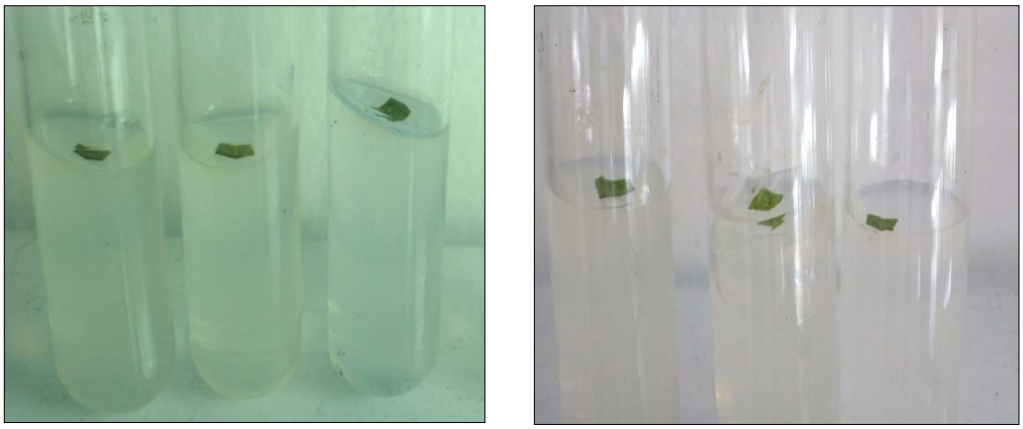


Figura 3.4.5. Aparati stomatal në epidermën e kërcellit të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë (**a**). **1**. pori, **2.** qelizë gojëzore, **3.** qelizë shoqëruese (epidermale). Trikomat në epidermën e kërcellit të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja Divjakë (**b**) dhe të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* Shkopet (**c**),(**d**).

Gojëzat dhe trikomat ndodhen edhe në epidermën e kërcellit të bimëve barishtore. Llojet e trikomave dhe aparati stomatal i vërejtur në dy subspeciet e mara në studim janë në përputhje me raportimet e autorëve të tjerë. Ato janë vrojtuar në shumë specie të familjes *Asteraceae* si psh: *Solidago canadensis* (Cao Fei *et al.,* 2009), *Artemisia vulgaris* L. (El-Sahhar *et al*., 2011), *Eclipta alba* (L.) Hassk*, Parthenium hysterophorous* L. (Khan *et al*., 2013), *Koelpinia linearis* (Al-Tameme, 2014).

3.5. Organogjeneza tek eksplantet e gjetheve të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja dhe subsp. *albanicus*.

Rruga indirekte e zhvillimit të eksplanteve në kulturë *in vitro* u realizua nëpërmjet kultivimit të copave të gjetheve, të cilat u morrën nga bimëzat të kultivuara *in vitro* të fituara nga stadi i dytë i mikroshumimit për të dy subspeciet e *Aster albanicus* Degen. Këto bimëza karakterizohen nga juveniliteti i indeve dhe steriliteti i tyre. Prania e indeve juvenile jep siguri për përgjigje efektive në kulturë *in vitro*, meqënëse potenciali rigjenerues i tyre është maksimal në krahasim me indet e vjetra në moshë. Nga ana tjetër, steriliteti i indeve garanton suksesin e kulturës me përqindje maksimale të infeksioneve të mundshme. Duhet theksuar se duke manipuluar me përbërësit e terrenit, nga indi gjethor i prerë mund të formohen organe *de novo* si rrënjë, sythe ose embrione (Bhojwani & Razdan, 1996; Kongjika *et al.*, 2002, 2010). Përgjigja varet nga burimi i indit, si tipi, pozicioni i tij në bimë, specia etj, kushtet kimike dhe fizike të kulturës dhe terreni ushqyes i përdorur (Ainsley *et al*., 2000). Përdorimi i terreni ushqyes Murashige & Skoog (MS) është raportuar për kallusogjenezën dhe eorganogjenezën e mëvonshme me rezultate pozitive të *A. sinuata* (Vengadesan *et al.,* 2000). Ky terren u përdor edhe në kallusogjenezën dhe embriogjenezën somatike të gjetheve të *Castanea sativa* Mill (Corredoira *et al.,* 2003). Në terrenin MS, specia *Paulownia elongata* S. ,Y. Hu ka pasur një përqindje më të lartë të kallusimit e krahasuar me terrenin WPM (Castellanos *et al*., 2006). Një nga faktorët më me ndikim në përgjigjen morfogjenike të kallusit është lloji dhe përqendrimi i rregullatorëve të rritjes. Në materiale nga fara e *Juglans regia*, janë vlerësuar përqëndrime të ndryshme të rregullatorëve të rritjes (Fernández *et al.,* 2000). Në rastin tonë, copat e gjetheve u prenë nga mesi i llapës së gjethes duke përfshirë dhe dellin kryesor dhe me përmasa 0.5cm x 0.5cm. Kultivimi i copave të gjetheve të inokuluara mbështetet nga një terren me përqëndrim të lartë të kripërave inorganike siç është terren ushqyes universal i plotë Murashige & Skoog (MS) me përmbajtje 0.4 mg l^{-1} BAP dhe 0.5 mg l^{-1} ANA.



a. **b.**

Figura 3.5.1. Kultivimi *in vitro* me copa gjethesh të *Aster albanicus* Degen: (**a**) subsp. *paparistoi* Qosja (Divjakë) dhe (**b**) subsp. *albanicus* **(**Shkopet).

3.5.1. Morfogjeneza e eksplanteve (copa gjethesh) të dy subspecieve.

1- Stadi i induktimit të kallusogjenenezës.

Terreni ushqyes MS me kombinimin e rregullatorëve të rritjes (citokininë BAP 0.4 mg l^{-1} dhe auksinë ANA 0.5 mg l^{-1}) duket se është optimal për fillimin e kallusogjenezës dhe për zhvillimin e mëtejshëm të kallusit për të dy subspeciet e *Aster albanicus* Degen. Ndryshimet që paraqiten në copat e inokuluara të gjetheve vërehen dukshëm brenda dy javëve të para të inokulimit. Pas një jave vihet re fryrja e eksplanteve, që shënon fillimin e kallusimit në një pjesë të copave të gjetheve (30% Divjaka dhe 25% Shkopeti). Fryrja është karakterisike fillimisht për buzët e copave të gjetheve (Fig. 3.5.2).

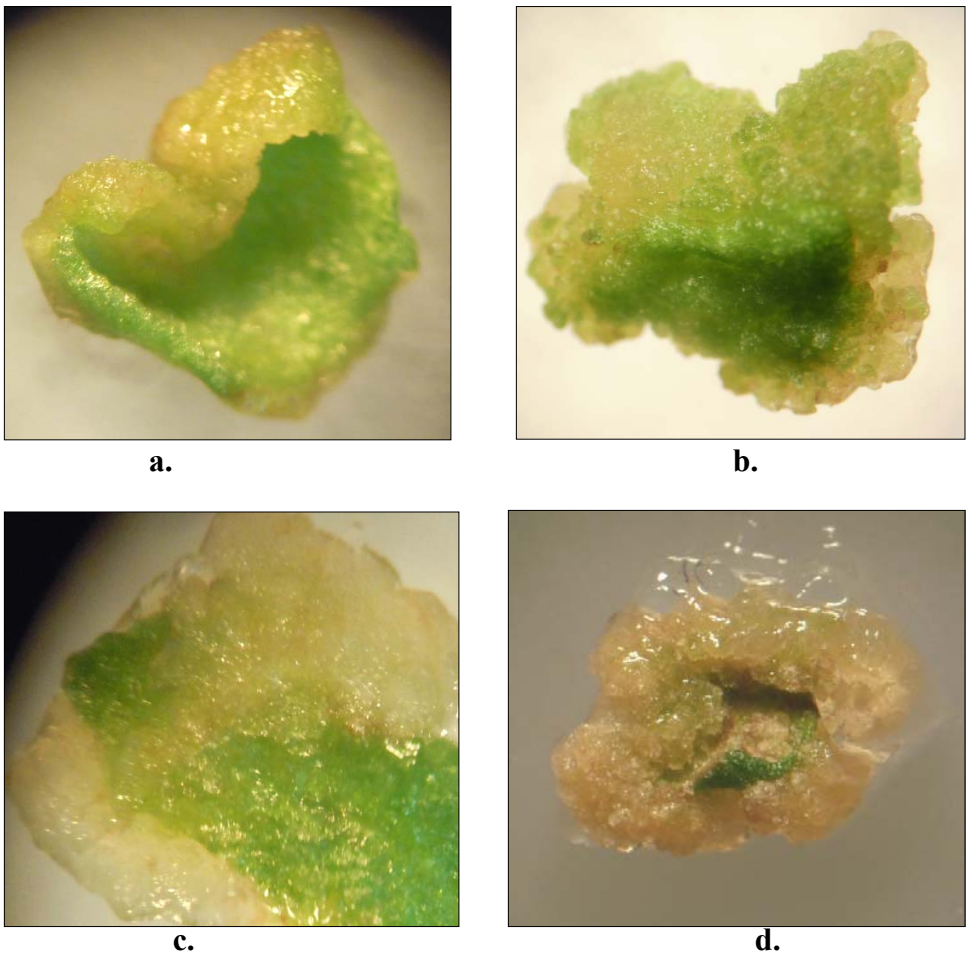


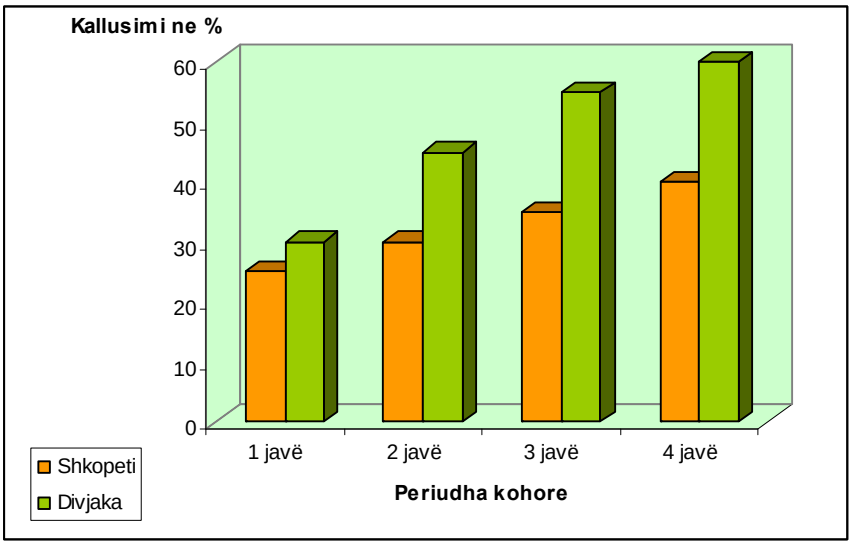
Figura 3.5.2. Formimi i kalluseve nga copat e gjetheve të bimëve të *Aster albanicus* Degen: **1.** faza fillestare e kallusogjenezës, (**a**) subsp. *paparistoi* Qosja (Divjakë) dhe (**c**) subsp. *albanicus* **(**Shkopet), **2**. Faza finale e kallusogjenezës (**b**) subsp. *paparistoi* Qosja (Divjakë) dhe (**d**) subsp. *albanicus* **(**Shkopet).

Pas dy javëve (Pasqyra 3.5.1 dhe Grafiku 3.5.1), copat e gjetheve duken në gjëndje të mirë, me ngjyrë të gjelbër dhe një pjesë e tyre kanë kaluar në kallusim të plotë (45% Divjaka dhe 30% Shkopeti). Pas pesë javëve, 70% e copave të gjetheve të *Aster*

albanicus Degen subsp. *paparistoi* Qosja (Divjakë) janë kallusuar me shënja të qarta masash të mëdha me qeliza amorfe të kallusit, kurse në copat e gjetheve të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* **(**Shkopet) vihet re se kallusi i zhvilluar paraqitet me ngjyrë kafe të errët. Ky lloj kallusi vazhdon të rezistojë, por pa zhvilluar meristemoide.

Pasqyra 3.5.1. Zhvillimi i copave të gjetheve të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja dhe subsp. *albanicus* në tre stadet (stadi i kallusogjenezës, i formimit të meristemoideve dhe i subkulturës).

Periudha kohore pas inokulimit	Numri i eksplanteve	Fillim kallusimi	Kallusim i plotë	Formim meristemoidesh	Koefiçenti i Mikroshumimit
Divjaka	20				
Shkopeti	20				
1 javë		30%			
		25%			
2 javë		45%			
		30%			
3 javë			55%		
			35%		
4 javë			60%	10%	
			40%	0%	
5 javë			70%	40%	
			0%	0%	
6 javë			80%	55%	
			0%	0%	
8 javë					2.5
					0



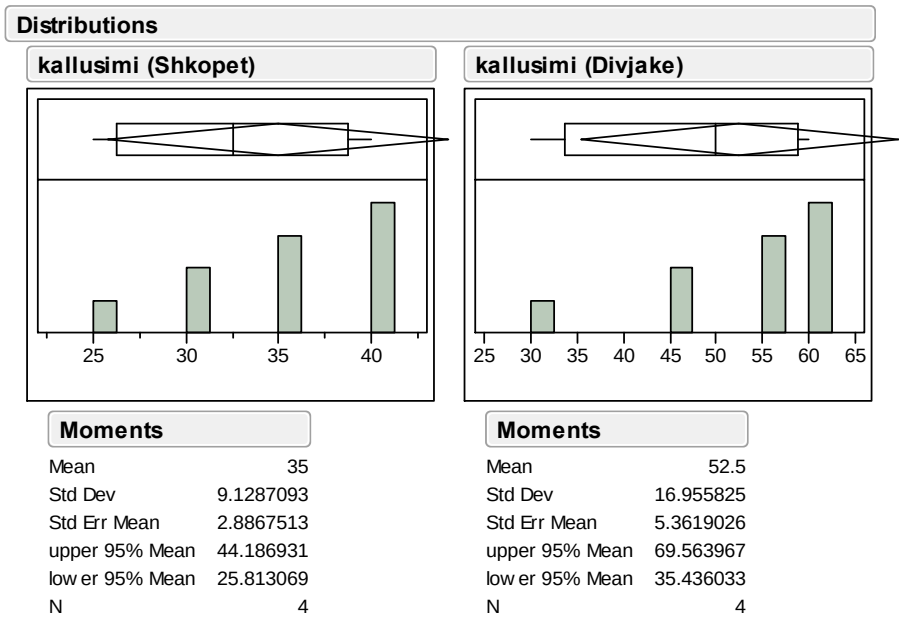
Grafiku 3.5.1. Dinamika e kallusogjenezës së copave të gjetheve të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen.

Në krahasim me copat e gjetheve të bimës *Ramonda serbica* dhe *Ramonda nathalie* (Kongjika *et al.*, 2003), kallusimi i copave të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi*

Qosja (popullata e Divjakës) është shumë më i shpejtë dhe i fuqishëm. Sipas autorëve (Bhojwani & Razdan, 1996; Neumann *et al.,* 2009), fryrjet që vijnë nga masa kallusore e qelizave amorfe e kanë origjinën nga proliferimi i qelizave somatike të eksplantit gjethor në kontakt me terrenin ushqyes të pasur me fitohormone në raport të lartë auksinë/citokininë. Kallusogjeneza ndihmohet nga fitohormonet ekzogjene të terrenit ushqyes. Si ndarja qelizore, dhe prodhimi i kallusit kërkon shtesa të auksinës ANA dhe citokininës BAP në raport (nivel më i lartë i auksinës në raport me sasinë e citokininës). Pierik, 1988 demostron se në disa specie, si formimi i kallusit dhe rigjenerimi i sytheve stimulohen fuqimisht kur epiderma e poshtme e gjethes është në kontakt me mjedisin ushqyes. Nga të dhëna të autorëve (Congedo, 2001; Kongjika *et al.*, 2002, 2003) rezulton se ndërmjet varianteve të kombinimeve të auksinave (ANA dhe AIA) me citokininat (BAP, kinetinë), kombinimi më optimal paraqitet 0.5mg•l^{-1} ANA me 0.4mg•l^{-1} BAP. I njëjti rezultat evidentohet edhe në rastin e *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja (popullata e Divjakës). Karakteristika më e rëndësishme e kallusit nga ana funksionale është potenciali i tij për të zhvilluar rrënjë e kërcej normalë dhe embrioide, që do të formojnë bimën e plotë, ose mund të formojnë kulturë në suspension në stadin e mëvonshëm (Bhojwani & Razdan, 1996; Kongjika *et al.*, 2002, 2010).

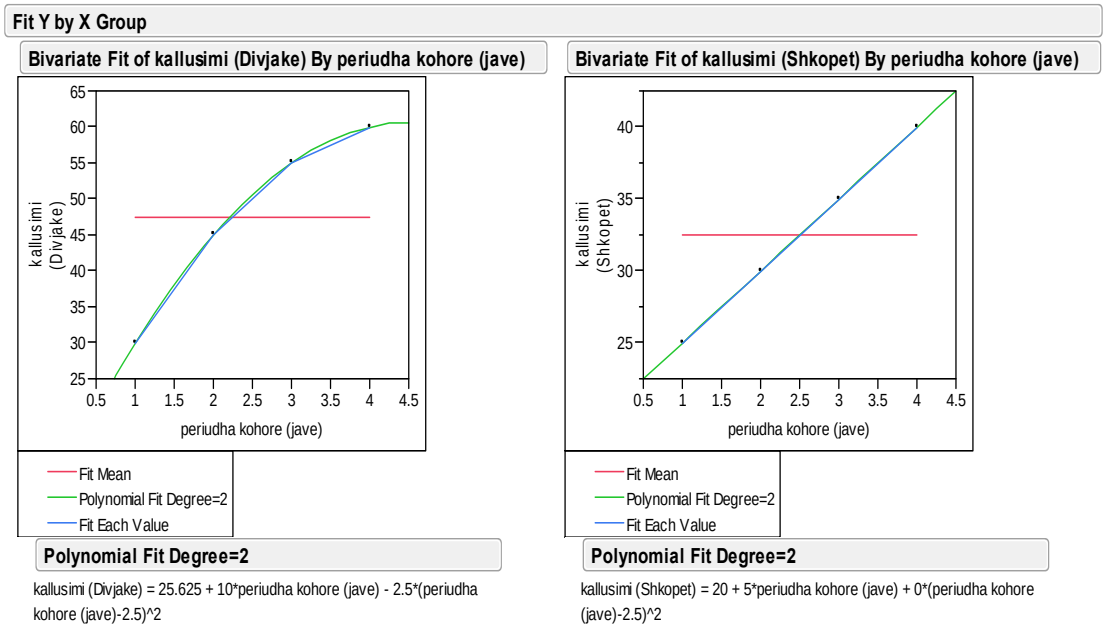
- **Përpunimi statistikor**

Për studimin e krahasimit të nivelit të kallusimit për dy subspeciet e vrojtuara janë përdorur rezultatet në përqindje të vrojtuara për dy popullatat në periudha kohore të njëpasnjëshme një-javore. Nga studimi i shpërndarjes dhe vlerësimi probabilitar i saj vihet re se popullata e Divjakës paraqet një rezultat mesatar për procesin e kallusogjenezës të nivelit 52.5% me një gabim standard mesatar të nivelit 2,9% , kundrejt 35% të asaj të Shkopetit me një gabim standard mesatar të nivelit 5,4%.



Grafiku 3.5.2. Shpërndarja probabilitare e kallusimit (në përqindje) të copave të gjetheve të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen.

Në ANOVA-n një-drejtimshe të paraqitur me anë të Grafikut 3.5.3. jepet ekuacioni matematik probabilitar i zhvillimit të procesit të kallusogjenezës për vrojtimet e bëra në të dy subspeciet.

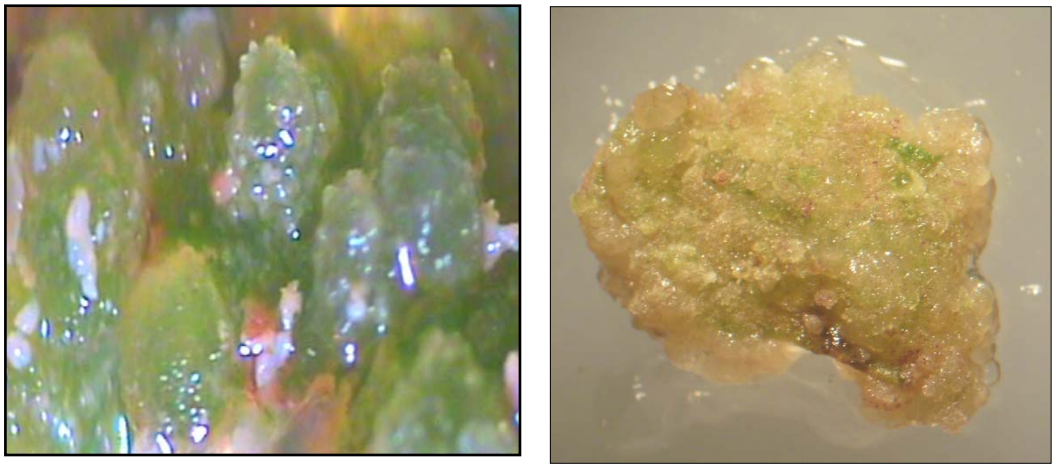


Grafiku 3.5.3. Ekuacionet polinomiale të vrojtimeve për dy subspeciet e *Aster albanicus* Degen.

Autorët shqiptarë (Kongjika *et al.*, 2002) kanë punuar dhe për bimën tjetër të klasifikimit si bimë ballkanike, *Vinca balkanica* Penzes, si dhe për bimët endemike shqiptare si *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja (Kongjika *et al.*, 2004) dhe *Hypericum haplophylloides* Halascy et Bald. (Kongjika *et al.*, 2002), për të cilat është përdorur metoda e mikroshumimit me anë të copave të gjetheve të inokuluara në terren ushqyes MS të pasuruar me kombinime të ndryshme të citokininave (BAP dhe kinetinë) dhe auksinave (ANA dhe AIA). Duhet theksuar se terreni ushqyes optimal për fillimin e kallusogjenezës dhe zhvillimin e mëtejshëm të kallusit, pothuaj për të gjitha speciet e studiuara u paraqit terreni me kombinimin ANA 10^{-4} M dhe BAP 10^{-5} M.

2- Stadi i formimit të meristemoideve.

Formimi i kallusit është etapa e parë, që nga ana morfologjike përfaqësohet nga eksplanti me një numër frytësira. Pas stadit të induktimit, kallusi u nda dhe u kalua në terren ushqyes të ri, i njëjtë me atë të stadit të parë (MS me 0.5 mg l^{-1} BAP dhe 0.4 mg l^{-1} ANA). Ky operacion është i nevojshëm, pasi terreni varfërohet dhe thahet, si dhe metabolitët e sekretuar nga kallusi në rritje mund të grumbullohen në nivele toksike në terrenin ushqyes. Kjo strukturë (kallusi) është faza e ndërmjetme mbi të cilën fillojnë të zhvillohen meristemoidet javën e 4-të në sipërfaqe të kallusit (Fig. 3.5.3).

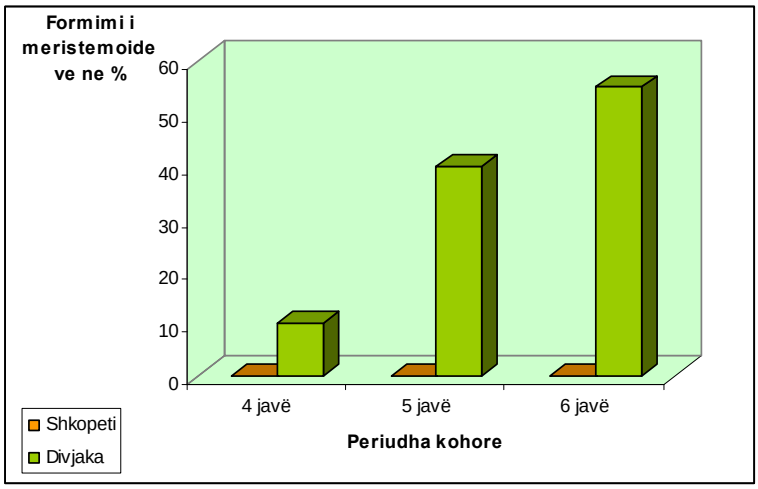


a. **b.**

Figura 3.5.3. Formimi i meristemoideve në sipërfaqe të kalluseve të copave të gjetheve të bimëve të *Aster albanicus* Degen: (**a**) subsp. *paparistoi* Qosja (Divjakë) dhe (**b**) subsp. *albanicus* **(**Shkopet)- nuk u formuan.

Në rastin e *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja (popullata e Divjakës) vëzhgohen qartë këto struktura në masën 10%. Pas 6 javësh inokulimi vëzhgohet një përqindje e lartë (55%) të kalluseve, ku shfaqen meristemoidet (Fig. 3.5.3, a). Të dhënat e literaturës (Kongjika *et al.*, 2004) tregojnë se 6 javë pas inokulimit të copave të gjetheve të asterit vëzhgohet një përqindje relativisht e lartë (68.4 – 92 %) të kalluseve. Në rastin e *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* **(**Shkopet) kallusi vazhdon të rezistojë, por pa zhvilluar meristemoide.

Të dhënat mbi dinamikën e formimit të meristemoideve paraqiten në Tabelën 3.5.1 dhe në Grafikun 3.5.4.

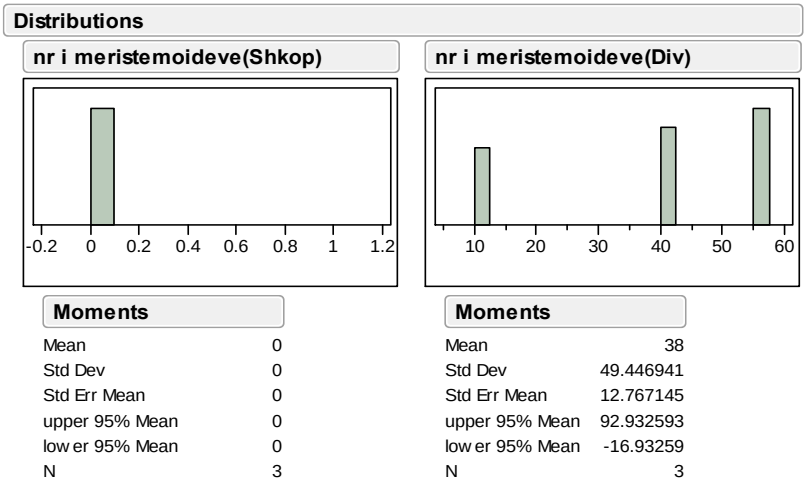


Grafiku 3.5.4. Dinamika e formimit të meristemoideve në sipërfaqe të kallusit të copave të gjetheve të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen.

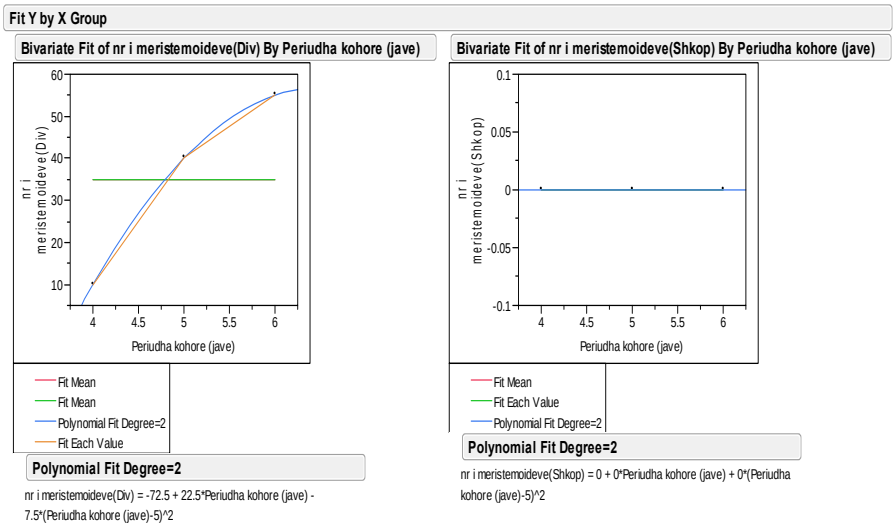
Përpjekje për mikroshumimin janë bërë për *Quercus ilex* (Kongjika *et al.*, 2002). Tek kjo specie takojmë vetëm rrugën e kallusimit dhe kjo nuk çon në organogjenezë. Morfogjeneza e qelizave bazale të eksplantit të embrionit bashkë me kotiledonin shkon deri në formimin e një kallusi masiv. Ky kallus pëson ndryshime në ngjyrë dhe në madhësi. Nga kallus kafe i hapur duke u rritur, ai intensifikon ngjyrën drejt kafes së mbyllur. Autorë te tjerë kanë vënë në dukje se prania e pigmenteve antociane ndikon në moszhvillimin e meristemoideve apo embrioneve somatike (Marinescu, 2001). Duke pasur parasysh përgjigjen morfogjenike të kallusit mund të eliminohen rregullatorët e rritjes duke modifikuar përbërjen minerale të terrenit ushqyes (Ramage & Williams 2002)

- **Përpunimi statistikor**

Nga studimi i shpërndarjes së numrit të meristemoideve në siperfaqe të kallusit shihet qartë se vetëm eksplantet e Divjakes kanë reaguar pozitivisht me një mesatare në përqindje të nivelit 38% me një gabim mesatar standard paksa të lartë (12.77%).



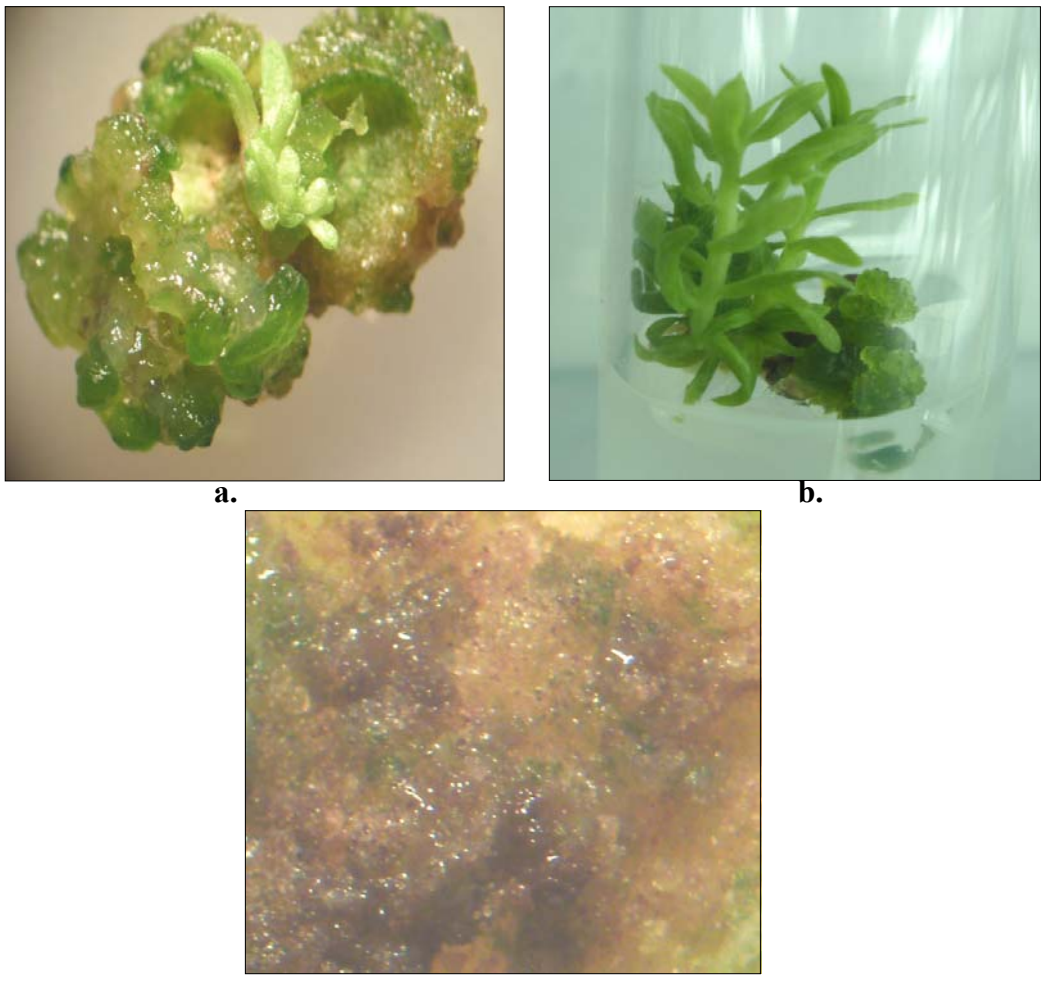
Grafiku 3.5.5. Shpërndarja probabilitare e numrit të meristemoideve (në përqindje) në sipërfaqe të kallusit të copave të gjetheve të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen.



Grafiku 3.5.6. Ekuacionet polinomiale të vrojtimeve për dy subspeciet.

3- *Stadi i rigjenerimit të organeve dhe i zgjatjes së sytheve.*

Pas gjashtë javësh, kalluset me meristemoidë të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja u kaluan në mjedis ushqyes MS me 0.4mg•l^{-1} ANA dhe 0.5mg•l^{-1} BAP. Ky raport është i kundërt me atë të mjedisit të kallusogjenezës (10:1). Në varësi të specieve bimore dhe materiali fillestar inokulues ndodh rigjenerimi dhe formimi i organeve të reja ose i embrioideve somatikë. Në studimin tonë vëmë re formohen sythe adventivë nga qëndrat meristemoide (Fig. 3.5.4, a). Duket qartë se sasia e lartë e citokininës BAP ndikon në rigjenerimin e kërcejve adventivë në zonën periferike të kallusit dhe në formimin e sytheve të reja. Pas tetë javësh, në sipërfaqe të kallusit vëzhgohet një numër i madh sythesh të reja të zhvilluara mirë dhe me gjethe karakteristike për specien (Fig. 3.5.4, b), të cilat i nënshtrohen subkulturës. Koefiçenti i mikroshumimit është 2.5.



a. **b.**

c.

Figura 3.5.4. Formimi i sytheve të reja të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja (Divjakë) (**a,b**) dhe (**c**) tek *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* **(**Shkopet)- nuk u formuan.

Të dhënat e literaturës (Kongjika *et al.*, 2004) tregojnë se ky koefiçent varion nga 3.4 deri 4.2. Në copat e gjetheve të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* **(**Shkopet) ruhet gjendja e kallusimit pa efekte të potencialit rigjenerues (Fig. 3.5,4, c). E njëjta dukuri takohet dhe në copat e gjetheve të *Quercus suber* L. (Pinto *et al*., 2002).

Autorët (Kongjika *et al.*, 2002) paraqesin rezultate për kallusimin e rreth 50% të eksplanteve të copave të gjetheve të bimës *Vinca balkanica* Penzes pas 20 ditësh të kulturës, por edhe pas 40 ditësh ruhet gjendja e kallusimit pa efekte të potencialit rigjenerues. Autorët konsiderojnë kërkesat specifike të kësaj specieje për një terren ushqyes të ri me fitohormone të tjerë ose me raporte të ndryshme të fitohormoneve për stimulimin e organogjenezës indirekte. E njëjta gjë konsiderohet edhe për *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus.*

Rezultate të kënaqshme në kultivimin e gjetheve u dhanë edhe për *Haberlea rhodopensis* (Petrova *et al*., 2010) dhe *Craterostigma plantagineum* (Toldi *et al*., 2002). Megjithatë, ka dallime midis përgjigjes së eksplanteve gjethore të specieve të ndryshme ndaj formimit të formacioneve të reja gjatë organogjenezës. Në studimet e mëparshme është vënë re një dallim i dukshëm midis organogjenezës indirekte të ramondave dhe të asterit, që qëndron në faktin se për ramondat është karakteristike shfaqja e bimëzave të plota edhe të rrënjëzuara në stadin e tretë të organogjenezës, kurse për bisqet e reja adventive të asterit kërkohet një stad i katërt i rrënjëzimit në një terren ushqyes MS pa praninë e citokininës BAP, por në prani të auksinës AIB, induktor i rrënjëzimit dhe të giberelinës GA_3 (Kongjika *et al.*, 2004). E njëjta dukuri takohet dhe gjatë rigjenerimit të bimëzave nga copat e gjetheve të species tjetër endemike *Hypericum haplophylloides* Halascy et Bald. (Kongjika *et al.*, 2002), ku u vëzhgua se 60% e eksplanteve kalon në fazat e ndryshme të organogjenezës indirekte deri në formimin e rrënjëzave primare dhe të sytheve te reja në terrenin MS me shtesa të citokininës BAP dhe auksinës ANA.

3.5.2. Histogjeneza e eksplanteve të dy subspecieve.

Gjatë studimit në nivel mikroskopik u evidentuan disa nga stadet: Fillimisht formohet kallusi i shkrifët me strukturat e meristemoideve. Zhvillimi i meristemoideve rrjedh nga qelizat parenkimatike të kallusit. Sipas të dhënave të literaturës (Chen & Galston, 1967; Predieri *et al.,*1988) dhe studimeve histologjike të autorëve tanë për organogjenezën indirekte të bishtave të gjethes së kivit (Zekaj, 1999; Kongjika *et al.,* 2003), rezulton se qëndrat e meristemoideve e kanë prejardhjen nga qelizat parenkimatike dhe nga shtresat më të jashtme të kallusit, kurse në ato të brendshme formohen grupet e trakeideve. Më pas meristemoidet që lindin nga qelizat e meristemoideve të induktuara brënda kallusit zhvillojnë strukturat e meristemoideve, të cilat gradualisht formësohen duke u pajisur me organet e bimës së re.

Origjina e kallusit tek gjethja është pasojë e zhvillimit të qelizave epidermale (Fig. 3.5.5 a,e). Stadi i ndarjes së qelizave iniciuse në një strukturë amorfe vëzhgohet në Fig. 3.5.5 b,f. Deri në këtë stad zhvillohen eksplantet e gjetheve të *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* (Shkopet). Për eksplantet e gjetheve të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja (Divjakë), në stadin vijues dallojmë zhvillimin e strukturave histologjike, meristemoide, të cilat gjatë ndarjeve pajisen me suspensor që e lidhin me indin mëmë (Fig. 3.5.5, c).

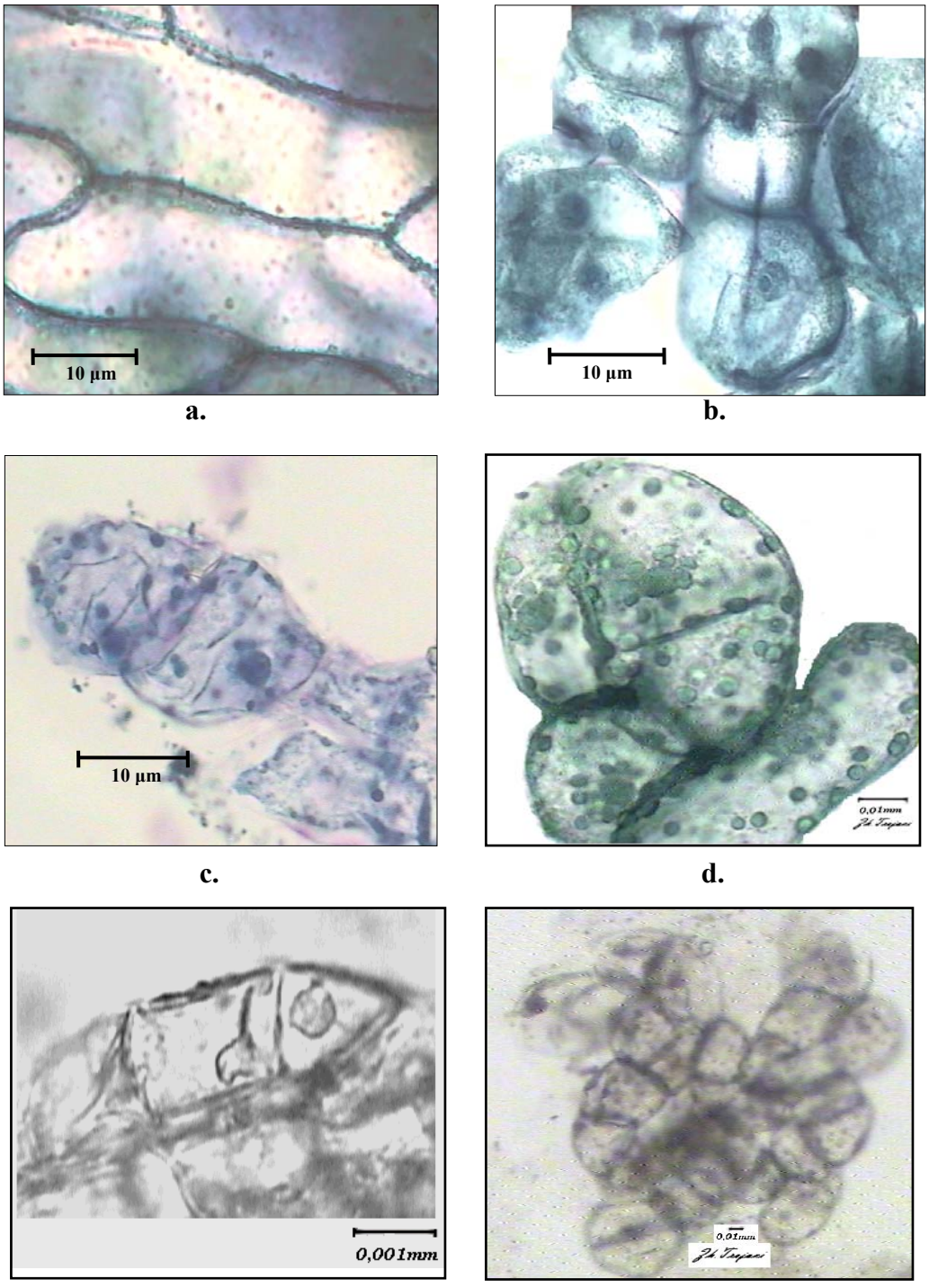


Figura 3.5.5. *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja (Divjakë): Qelizat e epidermës (**a**), stadi amorf (**b**), meristemoid me suspensor (**c**) dhe meristemoid primar në stadin sekondar (vezak) të zgjatjes bashkë me një meristemoid sekondar. *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* (Shkopet): qelizat e epidermës (**e**), stadi amorf (**f**).

Meristemoidet janë dy lloje: meristemoide primare, kur struktura zhvillohet direkt nga indi mëmë dhe sekondare kur zhvillohen nga qelizat e indeve të meristemoideve primare (Fig. 3.5.5, d). Qelizat e meristemoideve në zhvillim dallohen nga prania e bërthamave të mëdha, me leukoplaste, citoplazëm të dendur e vakuola të vogla (Fig. 3.5.5, d). Këto qeliza të induktuara brënda kallusit zhvillojnë strukturat e meristemoideve, të cilat gradualisht formojnë organet e bimës së re.

Rezultate të ngjashme për fazat e histogjenezës gjatë organogjenezës indirekte kanë raportuar edhe për *Cleome spinosa* Jacq. (Albarell *et al.,* 2007), *Musa acuminata* **(**Kanshanapoom & Koratchaikul, 2012).

IV. PËRFUNDIME

Në bazë të rezultateve të fituara nga studimi i dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen: subsp. *paparistoi Qosja* (Divjakë) dhe subsp. *albanicus* (Shkopet), të përhapura në Shqipëri, arrijmë në këto përfundime:

- Organogjeneza direkte realizohet në eksplantet e organizuara (sythe të majës, sythe anësore) në të dyja subspeciet e *Aster albanicus* Degen të kultivuara *in vitro.*

- Në stadin e proliferimit, terreni ushqyes MS/2 me shtesa të auksinës (ANA), acidit giberelik (GA_3) në raport 1:1 paraqitet optimal për fitimin e bimëzave të reja për të dyja subspeciet e *Aster albanicus* Degen.

- Terreni ushqyes MS me shtesa të citokininës (BAP) dhe auksinës (ANA) në raport 10:1 paraqitet optimal për fitimin e bimëzave të reja në stadin e subkulturës për të dyja subspeciet e *Aster albanicus* Degen.

- Në stadin e subkulturës vihen re ndryshime në intensitetin e zhvillimit të bimëzave dhe në diferencat morfologjike të tyre gjatë rritjes ashtu si në stadin e proliferimit për të dyja subspeciet e *Aster albanicus* Degen.

- Koeficenti i mikroshumimit dhe numri i sytheve anësorë i bimëzave të *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi Qosja* (Divjakë) është më i lartë sesa tek bimëzat e *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* (Shkopet).

- Konservimi *in vitro* me metodën e reduktimit së temperaturës dhe të ndriçimit për bimëzat e të dyja subspecieve të *Aster albanicus* Degen paraqitet më i suksesshëm.

- Konservimi *in vitro* me metodën e reduktimit të përqendrimit të fitohormoneve ose të rregullatorëve të rritjes në terrenin ushqyes është efikas vetëm për bimëzat e *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja (Divjakë).

- Me metodën e reduktimit të përqendrimit të fitohormoneve ose të rregullatorëve të rritjes në terrenin ushqyes, bimëzat ndryshojnë nga pikpamja morfolologjike nga bimëzat e subkulturës, kurse me metodën e reduktimit të temperaturës (4^oC) dhe të ndriçimit nuk ndryshojnë.

- Parametrat histologjikë të studjuar gjatë zhvillimit të eksplanteve me organogjenezë direkte (stadi i proliferimit dhe i subkulturës) dhe gjatë konservimit, rezultojnë se nuk paraqesin ndryshime tek të dy subspeciet të *Aster albanicus* Degen.

- Analizat histologjike të strukturave të organeve vegjetative (gjethe, kërcell, rrënjë) të kultivuara dhe të konservuara *in vitro*, të bimëzave të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen, tregojnë që kemi një zhvillim normal të eksplanteve.

- Në bimëzat e të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen, të studjuara si gjatë kultivimit dhe gjatë konservimit *in vitro*, gjethet janë *amfistomatike* me aparat stomatal *anomocitik*.

- Për të dy subspeciet e *Aster albanicus* Degen të kultivuara dhe konservuar *in vitro*, rezulton se gojëzat e epidermave të poshtme kanë qeliza roje të rrumbullakosura, kurse ato të epidermave të sipërme kanë qeliza roje eliptike.

- Në bimëzat e dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen, të kultivuara dhe të konservuara *in vitro*, dimensionet e gojëzave dhe dendësia stomatale në epidermën e poshtme është më e madhe se në epidermën e sipërme të gjetheve.

- Për të dy subspeciet e *Aster albanicus* Degen rezulton se në bimëzat *in vitro* dimensionet e gojëzave dhe dendësia stomatale është më e madhe në krahasim me bimëzat e konservuara me metodën e reduktimit të temperaturës dhe të ndriçimit.

- Për të dy subspeciet vrojtohen dy llojet e trikomave: trikomat jo gjëndërore dhe trikomat gjëndërore. Këto trikoma vrojtohen në të dy epidermat e gjethes (në të poshtmen dhe të sipërmen) dhe në dy lloj eksplantesh (*in vitro* dhe të konservuara).

- Gojëzat dhe trikomat ndodhen edhe në epidermën e kërcellit të dy subspecieve.

- Llojshmëria e gojëzave dhe trikomave është në përputhje me përcaktimin e këtyre strukturave për këto subspecie në në analizat e eksplanteve bimore të studjuara *in vivo*.

- Organogjeza indirekte me copa gjethesh rezulton si metodë efikase për shumimin e *Aster albanicus* Degen subsp.*paparistoi Qosja* (Divjakë). *Aster albanicus* Degen subsp.*albanicus* (Shkopet) me këtë metodë reagoi deri në stadin e induktimit të kallusogjenenzës.

- Për stadin e kallusogjenzës, terren i suksesshëm rezultoi terreni MS me shtesa të fitohormoneve citokininë (BAP) 0.4 mg l^{-1} dhe auksinë (ANA) 0.5 mg/l^{-1} .

- Për stadin e formimit të organeve të reja, terren optimal paraqitet ai me kombinim të fitohormoneve citokininë (BAP) 0.5 mg l^{-1} dhe auksinë (ANA) 0.4 mg l^{-1} për *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja (Divjakë).

V. REKOMANDIME

- Mikroshumimi me anë të organogjenezës direkte, si metodë optimale për prodhimin e një numri mjaft të madh bimësh brenda një kohe shumë të shkurtër, mund të përdoret në mënyrë të suksesshme për kultivimin e mëtejshëm të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen.

- Rekomandohet përdorimi si eksplante fillestare i strukturave të organizuara (sythe, meristema), të cilat nuk kalojnë në fazën e kallusogjenezës, duke minimizuar kështu mundësinë e shfaqjes së variacioneve somaklonale gjatë mikroshumimit.

- Ruajtja e gjermoplazmës së subspecieve në studim, veçanërisht me metodën e konservimit *in vitro* në temperaturë të ulta (4°C) dhe me ndriçim të reduktuar është mjaft e përshtatshme për kushtet tona për shkak të kostos së ulët dhe hapësirave të vogla, ku mund të përfshihet një numër i madh ekzemplarësh.

- Mikroshumimi me anë të organogjenezës indirekte nuk rezulton si metodë efikase *Aster albanicus* Degen subsp. *albanicus* (Shkopet). Me këtë metodë reagoi deri në stadin e induktimit të kallusogjenenzës. Rekomandohet të hartohen protokolle të detajuara për këtë subspecie.

VI. LITERATURA

1. **Aasamaa K., Sober A & Rahi M. (2001).** Leaf Anatomical Characteristics Associated with Shoot Hydraulic Con-ductance, Stomatal Conductance and Stomatal Sensitivity to Changes of Leaf Water Status in Temperate Deciduous Trees. *Australian Journal of Plant Physiology*, Vol. 28, No. 8, pp. 765-774.
2. **Abbott J.A. & Whitely E. (1976).** Cultures of *Malus* tissues *in vitro*. 1. Multiplication of apple plants from isolated shoot apices. *Scientia Hort.* 4: 183 – 189.
3. **Adedeji O. (2004).** Leaf epidermal studies of the species of Emilia Cass. (Senecioneae, Asteraceae) in Nigeria. - *Botanica Lithuanica*, 10(2): 121-133.
4. **Adedeji O. & Illoh H.C. (2004).** Comparative foliar anatomy of ten species in the genus *Hibiscus* Linn. in Nigeria. *New Botanist,* 31: 147-180.
5. **Adedeji O., Ajuwon O.V & Babawale O.O. (2007).** Foliar epidermal studies, organographic distribution and taxonomic importance of trichomes in the family *Solanaceae*, *International Journal of Botany* 3(3): 276-282.
6. **Adedeji O. & Jewoola O.A. (2008).** Importance of Leaf Epidermal Characters in the Asteraceae Family. - *Not. Bot. Hort. Agrobot*. 36(2): 7-16.
7. **Albarell N., Ribeir I., Simões C., Carvalho de Castro T, Gianfaldoni M., Callado C., Kuster R., Coelho8 M.G. and Mansur E. (2007).** Histological analysis of calluses from *in vitro* propagated plants of *Cleome spinosa* Jacq. Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 699-701.
8. **Adedeji O. (2012).** Systematic significance of trichomes and foliar epidermal morphology in the species of Stachytarpheta Vahl. (Verbenaceae) from Nigeria. *Thaiszia J. Bot*. 22(1): 1-31. ISSN 1210-0420.
9. **Agarwal D.C., Pawar S.S., Mascarenhas A.F. (1993).** Cryopreservation of spores of *Cyathea spinulosa* Wall. ex Hook., an endangered fern. *J. Plant Physiol*., 142: 124–126.
10. **Ahmed MB, Salahin M, Karim R, Razvy MA, Hannan MM, Sultana R, Hossain M, Islam R (2007).** An Efficient Method for in vitro Clonal Propagation of a Newly Introduced Sweetener Plant (*Stevia rebaudiana* Bertoni.) in Bangladesh. *Am. Eurasian J. Sci. Res*. 2: 121-125.
11. **Ahmed M. & Anjum M. A. (2009).** *In vitro* storage of some pear genotypes with the minimal growth technique. *Turk J Agric For*, 34: 25-35.
12. **Ahmed M. & Anjum M.A. (2010).** *In vitro* preservation of *Pyrus* germplasm with minimal growth using different temperature regimes. *Pak. J.Bot.,* 42(3): 1639 – 1650.
13. **Ahn, Y., L. Vang, McKeon T, & Chen G. (2007).** High-frequency plant regeneration through adventitious shoot formation in castor (*Ricinus communis* L.) *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* 43: 9-15.
14. **Ainsley P., Collins G. & Sedgley M. (2000).** Adventitious shoot regeneration from leaf explants of almond *Prunus dulcis* Mill. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* 36: 470-474.

15. **Akçin Ö.E. (2007).** Morphological and Anatomical Characteristics of *Cichorium intybus* L., *Tragopogon latifolius* Boiss. and *Tussilago farfara* L. (Asteraceae). *International Journal of Natural and Engineering Sciences* 1 (3): 81-85.
16. **Alhady MRAA. (2011).** Micropropagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni.: A New Sweetening Crop in Egypt. *Glob. J. Biotechnol. Biochem.* 6(4): 178-182.
17. **Alejo N. O. (1992).** Conservation du matériel génétique. Në: Fondements théoriques et pratiques de la culture des tissus végétaux, 79-86.
18. **Al-Tameme H.J. (2014).** Taxonomical study of the genus Koelpinia Pallas (Asteraceae) in Iraq. *Journal of Natural Sciences Research.* Vol. 4, No. 8. ISSN 2224-3186.
19. **Altundağ. E & Gürdal. B (2011).** Anatomical characteristics of *Centaurea glastifolia* L. (Asteraceae). Used as folk medicine in east Anatolia. *Journals. Fac. Pharm.* İstanbul. 40.
20. **Amoo S.O., Finnie J.F. & Staden J.V. (2009).** Effects of temperature, photoperiod and culture vessel size on adventitious shoot production of *in vitro* propagated *Huernia hystrix. Plant Cell Tissue Organ Culture* 99: 233‑238.
21. **Apter R.C., Mcwilliams E.L., Davis F.T. (1993).** *In vitro* and *ex vitro* adventious root formation in asian jasmine I. Comparative morphology. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 118: 902 – 905.
22. **Aschenbrenner A-K, Horakh S, Spring O. (2013).** Linear glandular trichomes of Helianthus (Asteraceae): morphology, localization, metabolite activity and occurrence. AoB PLANTS 5: plt028; doi:10.1093/aobpla/plt028.
23. **Ashmore S.E. (1997).** Status report on the development and application of *in vitro* techniques for the conservation of plant genetic resources. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
24. **Avato P., Fortunato I.M., Ruta C, D'Elia R. (2005).** Glandular hairs and essential oils in micropropagated plants of *Salvia officinalis* L. *Plant Science* 169: 29–36.
25. **Bajaj Y. P. S. (1991).** Storage and Cryopreservation of In Vitro Cultures. Në: Biotechnology in Agriculture and Forestry, vol. 17: 361-381.
26. **Bajaj. Y. P. S. (1995).** Cryopreservation of Plant Cell, Tissue, and Organ Culture for the Conservation of Germplasm and Biodiversity. Biotechnology in Agriculture and Forestry, vol. 32: 3-20. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.
27. **Bandyopadhyay S., Cane K., Rasmussen G. & Hamill J. (1999).** Efficient plant regeneration from seedling explants of two commercially important temperate eucalypt species–*Eucalyptus nitens* and *E. globulus*. *Plant Sci.* 140: 189-198.
28. **Bapat V.A., Yadav S.R., Dixit G.B. (2008).** Rescue of endangered plants through biotechnological applications. *Natl. Acad. Sci.Lett.* 31: 201-210.
29. **Baskaran P. & Jayabalan, N. (2005).** An efficient micropropagation system for *Eclipta alba* – a valuable medicinal herb. *In vitro Cellular Development Biology - Plant*. 41: 532–539.
30. **Bavaru A. & Bercu R. (2002).** Morfologia şi anatomia plantelor. Edited by Ex Ponto, Constanţa, 276p.
31. **Bekheet S.A., Taha H.S. & Saker M.M. (2002).** *In vitro* long-term storage of date palm. *Biologia Plantarum* 45: 121-124.

32. **Bercu R., Făgăraş M. & Broască L. (2012):** Anatomical features of *Aster trifolium* L. (Asteraceae) to saline envrionments- *Annals of RSCB* Vol. XVII, Issue 1.
33. **Bhatia R.C. (1984):** Foliar Epidermal Studies of *Heliotropium supinum* L. - *Folia Geobot. Phytotaxon*, (19): 381-385.
34. **Bhojwani S.S. & Razdan M.K. (1996).** Cellular Totipotency. In: Plant Tissue Culture. Theory and Practice, a Revised Edition. Studies in Plant Sciences, 5. Elsevier. 95-125.
35. **Bigot J. & Boucaud J. (1996).** Short-term responses of *Brassica rapa* plants to low root temperature: effects on nitrate uptake and its translocation to the shoot. *Physiology Plantarum* 96: 646-654.
36. **Bilz M., Kell S.P., Maxted N. & Lansdown R.V. (2011).** European Red List of Vascular Plants. Luxembourg: Publications Office of the European Union. p. 113.
37. **Bowes B. (1999).** A Colour Atlas of Plant Propagation and Conservation. ISBN: 978-1-874545-92-7. London: Manson Publishing.
38. **Bristow J.M. & Looi L.S. (1968).** Effect of carbon dioxide on the growth and morphogenesis of Marsilea. *Am. J. Bot.*, 55: 884-889.
39. **Brutti C. B., Rubio E. J., Liorente B. E. & Apostolo N. M. (2002).** Artichoke leaf morphology and surface features in different micropropagation stage. *Biol. Plant*., 45: 197-204.
40. **Budel J.M., Duarte M.R., Santos C.A.M & Farago P.V. (2004).** *Acta Farm. Bonaerense* 23: 477-83.
41. **Budel J.M., Duarte M.R., Paulo V.F. & Takeda I.J.M. (2006).** *Rev. Bras. Farmacogn.* 16: 53-60.
42. **Burritt D.J. (2008).** Efficient cryopreservation of adventitious shoots of *Begonia xerythrophylla* using encapsulation–dehydration requires pretreatment with both ABA and proline. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 95: 209–215.
43. **Cammareri, M., A. Errico, E. Filippone, S. Esposito and C. Conicella. (2002).** Induction of variability in chimeric *Aster cordifolius* 'White Elegans' through somaclonal variation. *Euphytica*, 128: 19-25.
44. **Cao Fei., Liao Yuan., Ma Ling. & Qiang Sheng. (2009).** Structural features of leaf epidermis and stem of different populations of *Solidago canadensis* and CCA analysis of the structural features with environmental factors. *Journal of Plant Resources and Environment.* Vol. 18, No. 3, pp. 1-9 ISSN: 1004-0978.
45. **Carlquist S**. **(1961/a).** Comperative Plant Anatomy.Holt, Rinehart and Winston. New York, U.S.A.
46. **Carlquist S. (1961/b).** Handling the Anomalous Genus. Recent Advances in Botany. 1, 165-168.
47. **Cardoza V., & D'Souza L. (2002).** Induction, development and germination of somatic embryos from nucellar tissues of cashew (*Anarcadium occidentale* L.). *Sci. Hortic.* (Canterbury, Engl.), 93: 367-372.
48. **Carter G.A. & Knapp A.K. (2001).** Leaf optical properties in higher plants: linking spectral characteristics to stress and chlorophyll concentration. *American Journal of Botany*, 88: 677-684.
49. **Case, S. (2004).** Leaf stomata as bio indicators of environmental change. TIEF, Vol. 1.

50. **Cassells A. C. (1979).** The effect of 2,3,5-triiodobenzoic acid on caulogenesis in callus cultures of tomato and *Pelargonium*. *Physiol. Plant*. 46: 159-164.
51. **Castellanos O., Rodriguez A., Rodríguez J & Rodríguez B. (2006).** Organogénesis indirecta y enraizamiento *in vitro* de *Paulownia elongata*. e-Gnosis (on-line). Vol 4, Art. 15.
52. **Catana R., Mitoi E.M., Helepeciuc F. & Holobiuc I. (2010).** *In vitro* conservation under slow growth conditions of two rare plant species from Caryophyllaceae family. *Electronic Journal of Biology,* 6(4): 86-91.
53. **Capuana M. & Ponti F. (2008).** "In vitro" medium term conservation of *Myrtus communis* L. *Propagation of Ornamental Plants* 8(2): 111-113.
54. **Chandra I., & Bhanja P. (2002).** Study of organogenesis *in vitro* from callus tissue of *Flacurtia jangomonas* (Lour.) Raeush through scanning electron microscopy. *Curr. Sci*. 83: 476-479.
55. **Chaturverdi R., Razdan M.K. & Bhojwani SS. (2003).** An efficient protocol for the production of triploid plants from endosperm callus of neem, *Azadirachta indica* A. Juss. *Journal of Plant Physiology,* 160: 557–564.
56. **Chen H. R. & Galston A. W. (1967).** Growth and development of *Pelargonium* pith cells *in vitro*. II. Initiation of organized development. *Physiol. Plant*. 20: 533-539.
57. **Choffe K.L., Victor J.M.R., Murch S.J. & Saxena P.K. (2000).** In vitro regeneration of *Echinacea purpurea* L.: Direct somatic embryogenesis and indirect shoot organogenesis in petiole culture. *In Vitro Cell Dev*-Pl 36(1): 30–36.
58. **Chris Hawes & Beatrice Satiat-Jeunemaitre (2001)**. Plant Cell Biology. A practical Approach. Plant Histology: 190-206 OXFORD University Press.
59. **Ciha., A.J. and Brun W.A. (1975).** Stomatal size and frequency in soybeans. *Crop. Sci*., pp: 309-313.
60. **Claessens E.F. & Van Cotthem W. (1973).** A New Classification of the Ontogenic Types of Stomata. *The Botanical Review*, Vol. 39, No. 1.
61. **Congedo C. (2001).** Micropropagation of Salento endemic species. In: Proceedings of the 3th Seminar "Italo-Albanian cooperation for the enhancement of plant biodiversity" 135-145.
62. **Corredoira E., Ballester A & Vieitez A.M. (2003).** Proliferation, maturation and germination of *Castanea sativa* Mill. somatic embryos originated from leaf explants. *Ann. Bot.* (London), 92: 120-136.
63. **Cristescu I.M, Anton D & Simeanu C. G. (2012).** The study of foliar epidermis at species of succulents flowery plants belonging to the Senecio genre (Fam. Asteraceae).
64. **Cronquist A. (1981).** "An integrated system of classification of flowering plants", Columbia University Press, Neë York. Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers, 296-300.
65. **Cutler S. & Bonetta D. (2009).** Plant Hormones. Methods and Protocols. Second edition. Humana Press. ISSN 1064-3745.
66. **Çaushi 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.

67. **Çaushi E., Kongjika E. & Zekaj Zh.(2003).** Production of diseases- free plants of carnation by meristem culture. *AJNTS Albanian Journal of Natural and Technical Sciences*. Nr. 13: 57-71.
68. **Da Silva T.L. & Scherwinski-Pereira J.E. (2011).** *In vitro* conservation of *Piper aduncum* and *Piper hispidinervum* under slow-growth conditions. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46(4): 383-389.
69. **Damiano C., Arias Padro M.D. & Frattarelli A. (2008)**. Propagation and establishment *in vitro* of myrtle (*Myrtus communis* L.), pomegranate (*Punica granatum* L.) and mulberry (*Morus alba* L.), *Propagation of Ornamental Plants,* 8 (1): 3-8.
70. **Das A., Gentait S & Mandal N. (2011).** Micropropagation of an Elite Medicinal Plant: *Stevia rebaudiana* Bert. *International Journal of Agricultural Research* 6(1): 40-48. ISSN 1816-4897.
71. **Day J.G. & Stacey G.N. (2007).** Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols. Second Edition. Humana Press, Totowa, New Jersey.
72. **De Paoli G., Rossi V. & Scozzoli A. (1994).** Micropropagazione delle piante ortoflorofrutticole, Edagricole Bologna, 151-154.
73. **Dereuddre J., Scottez C., Duron Y.A.M. (1990).** Effect of cold hardening on cryopreservation of axially pear (*Pyrus communis* L. cv. Beurre Hardy). Shoot tips of in vitro plantlets. C.R. Acad. SCI. Paris. pp: 265–272.
74. **Dereuddre J. & Tannoury M. (1995).** Cryopreservation of Germplasm of Carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). In: Biotechnology in Agriculture and Forestry, vol. 32: 458-468.
75. **Desbrunais A.B., Noirot M. & Chairrier A. (1992).** Slow growth *in vitro* conservation of coffee. *Plant cell tissue and tissue culture*, 31: 105 – 110. Kluwer Academic Pubblishers.
76. **Dhar, U. & M. Joshi. 2005.** Efficient plant regeneration protocol through callus for *Saussurea obvallata* (DC.) Edgew. (Asteraceae): effect of explant type, age and plant growh regulators. *Plant Cell Rep*, 24: 195-200.
77. **Dilcher D.L. (1974).** Approaches to the identification of angiosperm leaf remains. *Bot. Rev.* 40: 1-157.
78. **Dirr M.A. & Heuser J.C.W. (1987).** The Reference Manual of Woody Plant Propagation: From Seed to Tissue Culture. Varsity Press, Athens, GA, USA.
79. **Dodds J. H. & Roberts L. W. (1995).** Cryopreservation of Germplasm. Në**:** Experiments in Plant Tissue Culture, 195-203.
80. **Duarte M.R., Budel J.M., Matzenbancher N.I & Menarim D.O. (2011).** Microscopic Diagnosis of the Leaf and Stem of Lucilia nitens Less., Asteraceae *Latin American Journal of Pharmacy*, 30 (10).
81. **Dunwell J.M. (1985).** Anther and ovary culture. Cereal Tissue and Cell Culture, 3-45.
82. **Eames A.J. & Mac Donald L.H. (1947).** Plant Anatomy. 2nd Edn., Mc graw-Hill Book Company, Ink., New York and London.
83. **Eltahir S.A. & AbuEReish I. B. (2011)**. Microscopical Studies on the leaf and petiole of *Vernonia amygadlina* Del. Pelagia Research Library Advances in Applied Science Research, 2(2): 398-406, ISSN: 0976-8610.

84. **El-Sahhar K. F., Nassar R., Farag M. & Hend M. (2011).** Morphological and Anatomical Studies of *Artemisia vulgaris* L. (Asteraceae) II. Anatomical Characteristics and Volatile Oil, *Australian Journal of Basic & Applied Sciences,* Vol. 5, Issue 6, p56.
85. **Ellis R.P. (1976).** A procedure for standardizing comparative leaf anatomy in the *Poaceae*. I. The leaf blade as viewed in transverse section. *Bothalia* 12: 65-109.
86. **Endress R. (1994).** Plant Cell Biotechnology. Pubblished by Springer –Verlag, Berlin Heidelberg, Germany.
87. **Engelmann F. (1997).** *In vitro* conservation methods. In Callow J.A., Ford-Lloyd B.V., newbury H.J. (eds) Biotechnology and Plant Genetic Resources: Conservation and use. CAB International Wallingford, New York. pp. 119-161.
88. **Engelmann F. & Engels J.M.M. (2002).** Technologies and strategies for *ex situ* conservation. In Engels, J.M.M., Ramanatha Rao, V., Brown A.H.D. Jackson M.T. (eds) Managing Plant Genetic Diversity. Wallingford and Rome, CAB International and IPGRI. pp. 89-104**.**
89. **Engelmann, F. (2011).** Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant,*, 47, 5–16.
90. **Esau K. (1965)**. Plant Anatomy. 2nd Ed. John Willey and Sons. New York. U.S.A.
91. **Evert R.F. (2006).** Esau's Plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development, (3th ed.). Edited by John Wiley and Sons, 601p.
92. **Falasca G., Reverberi M., Lauri P., Carboni E., De Stradi A. & Altamura M.D. (2000).** How *Agrobacterium rhizogenes* triggers de novo root formation in a recalcitrant woody plant: an integrated histological, ultrastructural and molecular analysis.
93. **Farago P.V., Budel J.M., Duarte M.R., Jurgensen I. & Takeda L.J.M. (2006).** *Acta Farm. Bonaerense* 25: 512-7.
94. **Faust W. Z., Jr. & Jones (S.B. 1973).** The systematic value of trichome complements in the North American group of Vernonia (Compositae). Rhodora 75, 517-528.
95. **Fay, M.F. (1992).** Conservation of rare and endangered plants using *in vitro* methods. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant,* 28: 1-4.
96. **Fernández H., Pérez C & Sánchez-Tamés R. (2000).** Modulation of the morphogenic potential of the embryonic axis of *Juglans regia* by cultural conditions. *Plant Growth Regul.* 30: 125-131.
97. **Fiorino P. & Loreti F. (1987).** Propagation of fruit trees by tissue culture in Italy. *HortScience*, 22: 353–358.
98. **Franks P.J., Drake P.L. & Beerling D.J. (2009).** Plasticity in Maximum Stomatal Conductance Constrained by Negative Correlation between Stomatal Size and Density: An Analysis Using *Eucalyptus globules. Plant*, *Cell & En-vironment*, Vol. 32, No. 12, pp. 1737-1748.
99. **Freire S.E., Urtubey E. & Giuliano D.A. (2007).** Epidermal characters of Baccharis (Asteraceae) species used in traditional medicine. *Caldasia* 29(1): 23-38.
100. **Fuller B.J., Lane N., Benson E.E. (2004).** Life in the frozen state. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

101. **Gaspar T., Franck T., Bisbis B., Kevers C., Jouve L., Hausman J. F. & Dommes J. (2002).** Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures. *Plant Growth Regulation*, 37: 263–285.
102. **Geneve R. (2005).** Comparative adventitious shoot induction in Kentucky coffee tree root and petiole explants treated with thidiazuron and benzilaminopurine. In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant 41: 489-493.
103. **George E.F. & Sherrington P.D. (1984).** Plant Propagation by Tissue Culture: Handbook and Directory of Commercial Laboratories. Exegetics Ltd., Eversley, UK.
104. **George E.F. (1996).** Plant Propagation by Tissue Culture. Part 2, In Practice, 725-730.
105. **George E.F., Hall M.A. & De Klerk D.J. (2008).** Published by Springer, Dordrecht, Netherlands. pp. 29-64.
106. **Georgieva K. & Lichtenthaler H.K. (2006).** Photosynthetic response of different pea cultivars to low and high temperature treatments. *Photosynthetica*, 44: 569-578.
107. **Giusti P., Vitti D., Fiocchetti F, Colla G, Saccardo F. & Tucci M. (2002).** *In vitro* propagation of three endangered cactus species. *Scientia Horticulturae*, 95: 319-332.
108. **Gonçalves S. & Romano A. (2007).** *In vitro* minimum growth for conservation of *Drosophyllum lusitanicum*. *Biologia Plantarum*, 51:795-798.
109. **Gómez C., Uribe M., Ríos R & Sánchez-Olate M. (2006).** Inducción de callo embriogénico en *Eucalyptus globulus* Labill. *Interciencia*, 31: 734-738.
110. **Goralski G., Popielarska M, Ślesak H, Siwińska D, & Batycka M. (2005).** Organogenesis in endosperm of *Actinidia deliciosa* cv. Hayward cultured in vitro. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica,* 47/2: 121–128.
111. **Grautheret R.,S. (1966).** Pricipaux phenomenes d' histogenese. La culture des tissues vegetaux techniques et realization: 347-357.
112. **Gunning J. & Lagerstedt H.B. (1985).** Long term storage techniques for in vitro plant germplasm. Proceeding of the International Plant Propagation Society. pp. 199-205.
113. **Gui Yao-lin & Xu Ting-Yu. (1982).** Studies on histology and histochemistry of the morfogenesis of stem segment in Chinise gooseberry cultured in vitro. *Acta Botanica Sinica*, vol. 24(4): 301- 306.
114. **Gupta P., Sharma S. & Saxena S. (2010).** Callusing in *Stevia rebaudiana* (Natural Sweetener) for Steviol Glycoside Production. *Int. J. Agric. Biol. Sci.* 1(1): 30-34.
115. **Hanna W.W., Towill L.E. (1995).** In: Plant Breeding Reviews. Edited by J Janick. Wiley, New York. pp. 179–207.
116. **Hartman H.D. & Kester D.E. (1982).** Principles of Tissue Culture for Micropropagation. Në: Plant Propagation. Principles and Practices, Prentice/Hall International, Inc., 523-544.
117. **Hartman H.D., Kester D.E., Davies F.T. & Geneve R.L. (1997).** Plant propagation: Principles and practices, 6th Ed. Prentice-Hall International Inc. New Jersey.
118. **Hoang Thi Thai Hoa. (2008).** Soil characteristics, cropping patterns, and use of organic resources in thecoastal sandy area of Thua Thien Hue province, Central

Vietnam. PhD Thesis. Université catholiquede Louvain, Louvain-la-Neuve, Belgium.

119. **Holobiuc I. (2006).** *Ex situ* endangered plant conservation using *in vitro* techniques. *Act. Hort. Bot. Buc*., 33: 5-16.
120. **Holobiuc I., Paunescu A. & Blindu R.** (**2007).** *Ex situ* conservation using *in vitro* methods in some Caryophyllaceae plant species from the Red List of vascular plants in Romania. *Rom. J. Biol.Plant Biol.* 49: 3–16.
121. **Hopkins W. (1999).** Introduction to plant physiology, 2nd edn. Wiley, USA. pp. 445–453.
122. **Hvoslef-Eide A.K. (1992).** Effects of pre-storage conditions on storage of *in vitro* culutres of (*Nephrolepis exallata* L.) and (*Cordyline fructicosa* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 28: 167-174.
123. **Hwang SJ. (2006).** Rapid in vitro propagation and enhanced stevioside accumulation in Stevia rebaudiana Ber. J. Plant Biol. 49(4):267-270.
124. **Iliev I., Gajdosova A., Libiakova G. & Jain S.M. (2010).** Plant Micropropagation. Edited by: Davey M.R. and Anthony P., Plant Cell Culture: Essential Methods. John Wiley & Sons, Ltd, Publication, London, UK. pp. 1-24.
125. **Iraqi, D., & Tremblay. F. (2001).** Analysis of carbohydrate metabolism enzymes and cellular contents of sugars and proteins during spruce somatic embryogenesis suggests a regulatory role of exogenous sucrose in embryo development. *J. Exp. Bot.* 52: 2301-2311.
126. **Islam M.T., Leunufna S., Dembele D.P. & Keller E.R.J. (2003).** *In vitro* conservation of four Mint (*Mentha* spp.) accessions. *Plant Tissue Culture*, 13(1): 37-46.
127. **Islam M.D.T., Dembele D.P. & Keller E.R.J. (2005).** Influence of explant, temperature and different culture vessels on *in vitro* culture for germplasm maintenance of four mint accessions. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 81: 123-130.
128. **Jain A, Kanita A. & Kothari S.L. (2001).** *De novo* differentiation of shoot buds from leaf-callus of *Dianthus caryophyllus* L. and control of hyperhydricity. *Scientia Horticulturae*, 87: 319-326.
129. **Jamuna S & Paulsamy S. (2014).** In vitro Propagation and Evaluation of Antioxidant Properties of the Medicinal Plant Species, *Hypochaeris radicata* L. (Asteraceae). *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 04(31): 29-37. DOI: 10.15272/ajbps.v4i30.488.
130. **Jayeola A. A., Thorpe J.R. & Adenegan J.A. (2001).** Macromorphological and micromorphological studies of the West African *Rhizophora* L. *Feddes Repertorium,* 112, 349-356.
131. **Jensen WA. 1962.** *Botanical histochemistry*. San Francisco: W. F. Freeman and Company.
132. **Jha T.B. & Ghosh B. (2005).** Plant Tissue Culture Basic and Applied. Universities Press, New Delhi, India.
133. **Jones J.H. (1986):** Evolution of the Fagaceae: the implications of foliar features. *Annl. Missouri Bot. Gard.* (73): 228-275.
134. **Jungnickel F. (1988).** Strawberries (*Fragaria* spp. and Hybrids). Në: Biotechnology in Agriculture and Forestry, vol. 6: 38-103.

135. **Jouve L., Franck T., Gaspar T., Cattivelli L. & Hausman J.F. (2000).** Poplar acclimatization tocold during *in vitro* conservation at low non-freezing temperature: metabolic and proteic changes. *Journal of Plant Physiology*, 157: 117-123.
136. **Kameswara N.R. (2004).** Plant genetic resources: Advancing conservation and use through biotechnology. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 3(2): 136 – 145.
137. **Kanchanapoom K & Korapatchikul K. (2012).** Histology of Callogenesis in Diploid Bananas (*Musa acuminata*, AA Group) 'Kluai Sa' and 'Kluai Leb Mu Nang' Not Sci Biol, 2012, 4(1):94-97. ISSN 2067-3205.
138. **Kandemir A., Makbul S., Türkmen Z. & Yilmaz M. (2006).** Morphological, Anatomical and Palynological Investigation on *Sonchus erzincanicus* Matthews (Asteraceae). *Turk J Bot.,* 30: 405-411.
139. **Kd Batagin-Piotto. (2012).** Anatomical analysis of peach palm (*Bactris gasipaes*) leaves cultivated in vitro, ex vitro and in vivo. *Brazilian Journal of Botany*, 35(1): 71-78.
140. **Keller E.R.J., Senula A., Leunufna S. & Grübe M. (2006).** Slow growth storage and cryopreservation-tools to facilitate germplasm maintenance of vegetatively propagated crops in living plant collections. *Intl. J. Refrig.* 29(3): 411-417.
141. **Keller E.R.J., Senula A. (2010).** Cryopreservation of Plant Germplasm: edited bay Michael R. Davey and Paul Anthony, Plant Cell Culture Essential Methods. A John Wiley & Sons, Ltd., Publication. Loughborough, UK. pp. 131-151.
142. **Keshavachandran R., Smitha M.K. & Vijayaraghavan R. (2005).** *In Vitro* Conservation of Endangered Medicinal Plants. Eds.: Indian Council of Agricultural Research: New Delhi, India, pp. 439–442.
143. **Khan S.U., Khan R.U., Mehmood S., Subhan M & Ullah I. (2013).** Anatomical study of selected weeds in high stress aera of Bannu, Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Pak. J. Weed Sci. Res.*, 19(3): 327-340.
144. **Klich M.G. (2000).** Leaf variations in *Elaeagnus angustifolia* related to environmental heterogeneity. *Environmental and Experimental Botany*, 44: 171-183.
145. **Koleva-Gudeva L., Spasenoski M & Trajkova F. (2007).** Somatic embryogenesis in pepper anther culture: The effect of incubation treatments and different media. *Sci. Hortic.* (Canterbury, Engl.) 111: 114-119.
146. **Koroch A., Juliani H.R., Kapteyn J & Simon J.E. (2001).** In vitro regeneration of *Echinacea purpurea* from leaf explants. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* (in press).
147. **Kongjika E., Zeka Zh., Çaushi E. & Dinga L. (1995).** Metodat e bioteknologjisë 'in vitro' për fitimin e bimëve të painfektuara. *Punime të Institutit të Kërkimeve Biologjike,* Nr. 10, 37 – 43.
148. **Kongjika E., Çaushi E., Jungnickel F., Mullaj A. & Dinga L. (1998).** Të dhëna paraprake për përhapjen, mikroshumimin dhe konservimin *in vitro* të bimës së rrallë ballkanike *Ramonda serbica* Panc. *Punime të Institutit të Kërkimeve Biologjike*, Nr. 11, 81-91.
149. **Kongjika E., Çaushi E. & Jungnickel F. (1999).** Mikroshumimi i bimës së rrallë ballkanike *Ramonda serbica* Panc. *Studime Biologjike*, 1: 45–53.
150. **Kongjika E., Zekaj Zh., Çaushi E. & Stamo I. (2002).** Bioteknologjia e Bimëve.- Kulturat " in vitro". Akademia e Shkencave e Shqipërisë. I.K.B, Tiranë. 69-86.

151. **Kongjika E., Çaushi E., Preçi B., Zekaj Zh., Çeko A.,Leventakis N., Grigoriadu K. & Tabaropoulos, A. (2003).** Estimation of some micropropagation methods for the introdution of kiwi plant in Albania. *AJNTS Albanian Journal of Natural and Technical Sciences*. Nr. 13: 17-35.
152. **Kongjika E., Zekaj Zh.,Çaushi E. & Preçi B. (2004).** Organogjeneza direkte e species endemike *Aster albanicus* Degen subsp *paparistoi* Qosja. *Studime Biologjike,* Nr. 8: 15-26. Akademia e Shkencave. I.K.B.
153. Kongjika E., Zekaj Zh., Çaushi E. & Preçi B. (2004). Organogjeneza indirekte e species endemike *Aster albanicus* Degen subsp *paparistoi* Qosja. *Studime Biologjike*, Nr. 9: 3-12. Akademia e Shkencave. I.K.B.
154. Kongjika E., **Preçi B & Çaushi E. (2004).** "In vitro" propagation of aromatic and medical plant of Salvia Genus. Comparative Biochemistry and Physiology (CAB), volume 137/A, Number 3/suppl. March 2004 ISSN: 1095-6433, S209. Abstract of Annual Main Meeting of the Society for Experimental Biology, 29th March – 2th April 2004, Heriot-Watt University, Edinburgh, UK.
155. Kongjika E., **Bacu A., Babani F. & Zeka Zh. (2008).** Biodiversity of Albanian populations of aromatic – medicinal plants in molecular, biochemical, histological level and some alternatives of *ex situ* conservation, VIII Congresso Nazionale "La Biodiversita – una risorsa per sistemi multifunzionali", 21 - 23 aprile 2008, Lecce, Italia, Sez.-2-P-2, Abstract Book dhe on-line.
156. Kongjika E., Mata V., Zekaj Zh. & Abdullai K. (2010). *In vitro* organogenesis of the Balkanic Gesneriad species. *AJNTS (Albanian Journal of Natural and Technical Sciences*, (1), XVI (27): 115 – 130.
157. **Kumekawa1 Y., Miyata1 H., Ohga1 K., Hayakawa1 H., Yokoyama J., Ito1 K., Tebayashi1 Sh., Arakawa1 R. & Fukuda1 T. (2013).** Comparative Analyses of Stomatal Size and Density among Ecotypes of *Aster hispidus* (Asteraceae). *American Journal of Plant Sciences*, 4: 524-527. http://dx.doi.org/10.4236/ajps.
158. **Kvaalen, H., Gram Daehlen O., Tove Rognstad A., Grønstad B & Egertsdotter U (2005).** Somatic embryogenesis for plant production of *Abies lasiocarpa*. *Can. J. For. Res.* 35: 1053-1060.
159. **Kyte L. (1991).** Plants from test tubes. An introduction to Micropropagation. Timber Press. Portland, Oregon, 20-24.
160. **Lambardi M., Halmagyi A., Benelli C., De Carlo A. & Vettori C. (2012).** Seed cryopreservation forconservation of ancient *Citrus* germplasm. *Adv. Hortic. Sci.*198–202.
161. Larcher W. (2000). Ecofisiolgia vegetal. Rima, São Carlos.3-14.
162. Lai C.C, Lin H.M, Nalawade S.M, Fang W. & Tsay H.S. (2005). Hyperhydricity in shoot cultures of *Scrophularia* yoshimurae can be effectively reduced by ventilation of culture vessels. *Journal of Plant Physiology,* 162: 355-361.
163. Lata H., Chandra S., Mehmedic Z., Khan I.A. & ElSohly M.A. (2012). *In vitro* germplasm conservation of high Δ^9-tetrahydrocannabinol yielding elite clones of *Cannabis sativa* L. under slow growth conditions. *Acta Physiologiae Plantarum* 34(2): 743-750.
164. **Lotocka B. & Geszprych A. (2004).** *Bot. J. Linn. Soc.* 144: 207-33.

165. **Lu Z., Quinones M.A and Zeiger E. (1993).** Abaxial and adaxial stomata from pimacotta (*Gossypium barbadense* L.) differ in their pigment content and sensitivity to light quality. *Plant Cell. Environ.*, 16: 851-885.
166. **Malaurie B., Trouslot M.F., Bethaud J., Bousalem M.,Pinel A. & Dubern J. (1998).** Medium-term and long-term *in vitro* conservation and safe international exchange ofyam (*Dioscorea* spp.) germplasm. *Electronic Journal ofBiotechnology*. 1(3): 26-27.
167. **Manjkhola S., Dhar U & Joshi M. (2005).** Organogenesis, embryogenesis and synthetic seed production in *Arnebia euchroma* an critically endangered medicinal plant of the Himalaya. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant*, 41: 244-248.
168. Mantell S. H., Mathews J. A. & McKee R. A. (1985). Cultural Tools and Technique. Ne: Principles of Plant Biotechnology. An Introduction to Genetic Engineering in Plants. Blackwell Scientific Publications, 94-99.
169. **Marinescu M., Matienco B & Brezeanu A. (2001).** Some aspects of cytomorfology of nonmorfogenus callus of *Vitis vinifera*. "International Symposium on Acclimatization and Establishment of Micropropagated Plants,, Program & Abstacts September 19-22, 2001 Sani-Halkidiki, Greece: 81.
170. **Marku H. (ed.) (2007)**: Red Book of Albanian Flora, Ministry of Environment, Forestry and Water Administration, p. 79.
171. **Mata V., Kongjika E., Bacu A. & Babani F. (2009).** *In vitro* culture of some Albanian populations of *Origanum vulgare* L. Në: Proccedings of the 4th International Annual Meeting of IASH, Skopie- Tetovo, FYROM, (30 august- 2 september 2009).
172. **Mata V. & Kongjika E. (2010).** "In vitro" Conservation of some Albanian populations of *Myrtus communis* L. *Natura Montenegrina*, 2010/9 (3): 553-565, Podgorica, ISSN 1800-7155 on line edition.
173. **Mata V. & Kongjika E. (2011).** "In vitro" medium term conservation of some spontaneous fruit trees. *International Journal of Ecosystems and Ecology Sciences (IJEES)*. ISSN 2224- 4980 Vol. I, Special Issue, 25-29.
174. **Melo-de-Pinna G.F.A., Kraus J.E. & Menezes N.L. (2002).** Vegetative organ anatomy of *Ianthopappus corymbosus* Roque & Hind (Asteraceae-Mutisieae). *Braz. J. Biol.* 62: 179-85.
175. **Metcalfe C. R. & Chalk L. (1950)**. Anatomy of the Dicotyledons: Leaves, Stem, and Wood in Relation to Taxonomy with Notes on Economic Uses. v. 2. Claredon Press, Oxford. pp. 724.
176. **Metcalfe C.R & Chalk l. (1972).** Anatomy of the dicotyledons. However, they are valuable at the family level. Secondly, Vol II, Oxford: the Clarendon press.
177. **Metcalfe C.R. & Chalk L (1979).** Anatomy of the Dicotyledons. Vol. 1. (2nd ed.). Oxford University Press, pp. 276.
178. **Metcalfe C.R. & Chalk L (1988)**. "Anatomy of the dicotyledons: systematic anatomy of the leaf and stem", 2nd ed., Clarendon, Oxford.
179. **Miho A., Topuzi L & Marka J. (2008).** Botanika e përgjithshme, F.SH.N, UT.185-422. ISBN 978-99943-835-8-0.
180. **Milan P, Hayashi AH. & Appezzato-da-Gloria B. (2006).** Comparative Leaf Morphology and Anatomy of Three Asteraceae Species. *Brazilian Archives of Bıology and Technology.*, 49:1, 135-144. ISSN 1516-8913

181. **Mizuno T., Horie K., Nosaka S., Obata H & Mizuno N. (2009).** "Serpentine Plants in Hokkaido and their Chemical Characteristics," *Northeastern Naturalist*, Vol. 16, No. 5, pp. 65-80. doi:10.1656/045.016.0506
182. **Moges A.D., Karam N.S. & Shibli R.A. (2003).** Slow growth *in vitro* preservation of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) shoot tips. *Advanced Hort Sciense,* 17: 15-20.
183. **Mogensen H.L (1982).** Double fertilization in barley and the cytological explanation for haploid embryo formation embryoless caryopses and ovule abortion. *Carlsberg Res. Comm*. 47: 313- 354.
184. **Monette P.L. (1995).** Conservation of Germplasm of Kiwifruit (*Actinidia* Species). Në: Biotechnology in Agriculture and Forestry, vol. 32: 321-331.
185. Monterio W.R.M., De Castro M.S., Viveiros C.M. & Mahllberg P.G. (2001). "Development and some histochemical aspects of foliar glandular trighomes of *Stevia rebaudiana* Bert- Asteraceae'' *Rev, Bras. Bot.* vol. 24 (3). *Revista Brasileirande Botânica* Print ISSN 0100-840.
186. 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. Printed in the Netherlands.
187. **Murashige T. & Skoog F. (1962).** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*., 15: 473-497.
188. **Nadkarni K.M. & Chopra. R.N. (2002).** *Indian Material Medica,* 1: 21-22.
189. **Nalawade S.M. & Tsay H.S. (2003).** In vitro propagation of some important chinese medicinal plants and their sustainable usage. Institute of Biotechnology, Chaoyang University of Technology,
190. **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.
191. **Neveen A.H. & Bekheet S.A (2008).** Mid-term storage and genetic stability of Strawberry tissue cultures. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 4(5): 505-511.
192. **Negash A., Krens F., Schaart J. & Visser B. (2001).** *In vitro* conservation of enset under slow-growth conditions. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture,* 66: 107–111.
193. **Negri V., Tosti N. & Standardi A. (2000)**. Slow growth storage of single node shoots of apple genotypes. *Plant Cell Tissue Org. Cult*., 62: 159-162.
194. **Ng S. & Ng N. (1991).** Reduced growth storage of germplasm. In: J.H. Dodds, ed. *In vitro* methods for conservation of plant genetic resources**,** Chapman and Hall, London.
195. **Nhut D.T., Don N.T., Vu N.H., Thien N.Q., Thuy D.T.T. & Duy N.J.A. (2006).** Advanced technology in micropropagation of some important plants. In: Teixeira da Silva, J.A. (ed) Floriculture Ornamental and Plant Biotechnology, Vol. II. Global Science Books, UK. pp. 325-335.
196. **Nhut D.T., Hai N.T. & Phan M.X. (2010).** A highly efficient protocol for micropropagation of Begonia tuberous. In: Jain, S.M. and Ochatt, S.J. (eds) Protocols for *In vitro* Propagation of Ornamental Plants. Springer protocols. Humana Press. pp. 15-20.

197. **Nievola C.C., Kraus J.E., Freschi L., Souza B.M. & Mercier H. (2005)**. Temperature determines the occurrence of CAM or C3 photosynthesis in pineapple plantlets grown *in vitro. In Vitro Cellular & Development Biology Plant*, 41: 832-837.
198. **Niino T., Shirata K., Oka S. (1995).** Viability of mulberry buds cryopreserved for 5 years at -135ºC. *Journal of Sericiculture Science of Janpan*, 64: 370-374.
199. **O'Brien T.P., Feder N. & Mccully M.E. (1964).** Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. *Protoplasma*, v. 59, p. 368-373.
200. **Ohga K., Muroi M., Hayakawa H., Yokoyama J., Ito K., Tebayashi S., Arakawa R & Fukuda T. (2012).** "Morphological and Anatomical Analyses of the Serpentine Ecotype of *Adenophora triphylla* var. *japonica* (Campanulaceae)," *Journal of Plant Studies*, Vol. 1, No. 2, pp. 180-187. doi:10.5539/jps.v1n2p180.
201. **Olatunji O. A. (1983)**. Practical manual for plant anatomy. Obafemi Awolowo University, Ile-Ife, Nigeria (manuscript).
202. **Orlova IV, Semenyuk EG, Volodin VV, Nosov AM. & Buryanov YI (2000).** The System of Regeneration and Gene Transformation of Rhaponticum carthamoides Plants Accumulating Ecdysteroides. *Russian J. Plant Physiol.* 47(3): 355-359.
203. **Orlikowska T. (1992).** Effect of *in vitro* storage at 4ºC on survival and proliferation of two apple rootstocks. *Plant Cell, Tissue and Organ Cult.* 31: 1–7.
204. **Özörgücü B, Gemici Y. & Türkan İ. (2006).** Comparative Plant Anatomy.Izmir: Ege Universiy. No: 129.
205. **Palmer P. G. & Gerbeth-Jones S. (1986).** A scanning electron microscope survey of the epidermis of East African grasses, IV. *Smithsonian Contribution to Botany*, 62, 1-120.
206. **Pallardy S.G. & Kozlowski T.T. (1979).** Frequency and length of stomata of 21 Populus clones. *Canadian Journal of Botany.* Vol. 57, pp. 2519– 2523.
207. **Paparisto K. & Qosja Xh. (1983):** *Buletini i Shkencave Natyrore*. Nr.1: 93-100.
208. **Panero J. L. & Bonnie S. C. (2012)**. Asteraceae. Sunflowers, daisies. Version 27. http:// tolweb.org/Asteracea/ 20780/2012.01.27. In: The Tree of Life Web Project, http:// tolweb.org
209. **Pati P.K., Rath S.P., Sharma M., Sood A. & Ahuja P.S. (2005).** *In vitro* propagation of rose-a review. *Biotech. Advances.* 94-114.
210. **Paul H., Daigny H., Sangwan-Norreel B.S. (2000).** Cryopreservation of apple (*Malus domestica* Borkh.) shoot tips following encapsulation-vitrification. *Plant Cell Report,* 19: 768-774.
211. **Perez Tornero O., Ortin Parraga F., Egea J. & Burgos L. (1999).** Medium term storage of apricot shoot tips *in vitro* minimal groëth methods. *Hort. Science*, 34: 1277 – 1278.
212. **Pedroso A.N.V, Lazarini R.A., Tamakiand V. & Nievola N**. **(2010).** I*n vitro* culture at low temperature and *ex vitro* acclimatization of *Vriesea inflata* an ornamental bromeliad. *Revista Brasil. Bot.*, v. 33(3): 407-414**.**
213. **Petrova G., Tosheva A., Mladenov P., Moyankova D. & Djilianov D. (2010).** *Ex situ* collection of model resurrection plant *Haberlea rhodopensis Friv.* as a prerequisite for biodiversity and conservation studies. *Biotech. Biotechnol. Eq.*, 24 (3): 1955-1959.

214. **Picoli EAT, Otoni WC, Figueira ML, Carolino SMB, Almeida RS, Silva EAM, Carvalho CR. & Fontes EPB. (2001).** Hyperhydricity in *in vitro* eggplant regenerated plants: structural characteristics and involvement of BiP (Binding Protein). *Plant Science*, 160: 857-868.
215. **Pierik R.I.M. (1988).** Storage of plant material in vitro. In: *In Vitro* Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers, 296-300.
216. **Pierik R.L.M. (1988).** Vegetative propagation. *In Vitro* Culture of Higher Plants, Martinus Nijhoff Publishers, 183-230.
217. **Pinto G., Valentim H., Costa A., Castro S & Santos C. (2002).** Somatic embryogenesis in leaf callus from a mature *Quercus suber* L. tree. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* 38: 560-572.Practice, 725-730.
218. **Piqueras A, Cortina M, Serena MD. & Casas JL. (2002).** Polyamines and hyperhydricity in micropropagated carnation plants. *Plant Science*, 162: 671-678.
219. Pompelli M.F., Martins SC.V., Celin E.F., Ventrella M.C. & Da Matta F.M. (2010). What is the influence of ordinary epidermal cells and stomata on the leaf plasticity of coffee plants groën under full sun and shady conditions? *Brazil J. Biol.* Vol 70(4):, 1083 – 1088.
220. Preil W., Florak P., Wix U. & Back A. (1988). Towards mass propagation by use of bioreactors. *Acta Hortic*., 226: 99-107.
221. Prodanoviç D., Krivosej Z. & Amidzic L., (2008). Internationally significant vascular plants in the North of Kosovo and the Metohija,the Middle Course Valley ot the Iber River. *Natura Montenegrina*, Podgorica 7(3): 329-335.
222. Pruski K.W., Lewis T., Astatkie T. & Nowak J. (2000). Micropropagation of Chokecherry and Pincherry cultivars. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 63: 93–100.
223. **Qosja Xh. & Puto L. (1982-1983).** Konsiderata morfologjike dhe fitotaksonomike mbi *Aster albanicus* Degen në Shqipëri, *Punime të QKB,* 3: 3-5.
224. **Qureshi S.J., Khan M.A & Ahmad M. (2008).** Comparative morphology, palynology and anatomy of five astraceous species from Pakistan. *African Journal of Agricultural Research*, vol. 3(9): 622-632. ISSN 1991-637X
225. **Qureshi S.J., Khan M.A. & Subhan K. (2008).** Comparative morphology, palynology and anatomy of two Asteraceae species. *Trakia Journal of Sciences*, vol. 6(4): 52-61. ISSN: 1313-3551.
226. **Rafiq M., Dahot MU., Mangrio SM., Naqvi HA. & Qarshi IA (2007).** *In vitro* clonal propagation and biochemical analysis of field established *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Pak. J. Bot.* 39: 2467-2474.
227. **Rahman AHMM. (2009)**. Taxonomic Studies on the Family Asteraceae (Compositae) of the Rajshahi Division. Ph.D. Thesis. Department of Botany, Rajshahi University, Bangladesh.
228. **Rahman AHMM, Islam A. & Rahman MM. (2011).** The Family Asteraceae of Rajshahi Division, Bangladesh. VDM Verlag Dr. Muller Publishing House Ltd. Germany.
229. **Rahman AHMM. (2013).** Systematic Studies on Asteraceae in the Northern Region of Bangladesh. *American Journal of Life Sciences.* vol. 1(4): 155-164. doi: 10.11648/j.ajls.20130104.13.

230. **Rahman AHMM., Islam A.K.M.R & Rahman M.M. (2013).** An anatomical investigation on Asteraceae family at Rajshahi Division, Bangladesh. *International Journal of Biosciences*. Vol. 3(1): 13-23. ISSN: 2220-6655.
231. **Ramage C & Williams R. (2002).** Mineral nutrition and plant morfogenesis. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant*, 38: 116-124.
232. **Rao N.K. (2004).** Plant genetic resources: Advancing conservation and use through biotechnology. *African Journal of Biotechnology*, 3: 136 – 145.
233. Raven H.P., Evert F.R. & Eichhorn E.S. (2003). Biology of Plants**.** 6th Ed. W. H. Freeman and Company Worth Publishers. 1-944.
234. Razdan M.K. (2003). Introduction to Plant Tissue Culture. Science Publishers Inc., Enfield, NH, USA.
235. **Reed B. M. (1992).** Cold storage of strawberries *in vitro*: A comparison of three storage systems. *Fruit Var. J*., 46: 93-102.
236. **Reed B.M. (1993).** Improved survival of *in vitro*-stored *Rubus* gerplasm. *J. Am. Sci.*, 118: 890-895.
237. **Reed B.M. (1999).** *In vitro* storage conditions for mint germplasm. *HortScience*, 34: 350.
238. Reed B. M. & Hummer K. E. (1995). Conservation of Germplasm of Strawberry (*Fragaria* Species). Në: Biotechnology in Agriculture and Forestry, vol. 32: 354-374.
239. **Reed B.M. (2008).** Plant Cryopreservation: A Practical Guide. Pubblished by Springer Science+Business Media.
240. **Reinert J. & Bajaj Y.P.S. (1977).** Anther Culture: Haploid Production and its significance. Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell Tissue and Organ Culture. 251.
241. **Renau-Morata B., Arrillaga I. & Segura J. (2006).** *In vitro* storage of cedar shoot cultures under minimal growth conditions. *Plant Cell Reports*, 25(7): 636-642.
242. **Roberts E.H. (1973).** Predicting the storage life of seeds. *Seed Science Technol*., 1: 499–514.
243. Roberts A., Smith E.F., Horan I., Walker S., Mathews D. & Mottley J. (1994). Stage III techniques for improving water relations and autotrophy in micropropagated plants. Physiology, Growth and Development of Plants in Culture. Kluwer, 314-321.
244. Rollins R. C. & Shaw E.A. (1973). The genus *Lesquerella* (*Cruciferae*) in North America. Harvard University Press, Cambridge.
245. Rout G.R. & Das P. (1997). Recent trends in the biotechnology of *Chrysanthemum*: a critical review. *Scientia Horticulturae*, 69(3-4): 239-257.
246. Rout G.R., Samantary S. & Das P. (2000). *In vitro* manipulation and propagation of medicinal plants. *Biotechnology Advances*, 18: 91-120.
247. Rout G.R. (2005). Micropropagation of *Clitoria ternatea* Linn. (*Abaca*) – an important medicinal plant. *In vitro Cellular Development Biology Plant,* 41: 516-519.
248. **Saha L & Mukherjee S.Kr. (2012):** Morphological variation of trichomes in some common species in Asteraceae. *IJPRBS*, vol. 1(6): 408-425. ISSN: 2277-8713.
249. **Sakai A. (1960).** Survival of the twigs of woody plants at -196°C. *Nature*, 185: 392–394.

250. **Sakai A., Kobayashi S., Oiyama I. (1990).** Cryopreservation of nucellar cells of navel orange (*Citrus sinensis* Osb. var. *brasiliensis* Tanaka) by vitrification. *Plant Cell Rep.*, 9: 30–33.
251. Salisbury F.B. |& Ross C.W. (1992). Plant Physiology. Wadsworth Publishing Company Belmont, California, 331: 541-545.
252. Saponari M., Bottalico G. & Savino G. (1999). *In vitro* propagation of *Prunus mahaleb* and its sanitation from Prune dwarf virus. *Advances in Horticultural Science*, 13: 56–60.
253. Sarasan V., Cripps R., Ramsay M.M., Athert M.M., Prendergast G. & Rowntree J.K. (2006). Conservation *in vitro* of threatened plants: progress in the past decade. *In Vitro Cellular & Development Biology Plant,* 42: 206-214.
254. **Satyavathi V.V., Jauhar P.P., Elias E. & Rao M.B. (2004).** Effect of growth regulators on *in vitro* plant regeneration in durum wheat. *Crop Science*. Vol. 44: 1839-1846.
255. **Sauer U. & Wilhelm E. (2005).** Somatic embryogenesis from ovaries, developing ovules and immature zygotic embryos, and improved embryo development of *Castanea sativa. Biol. Plant*. 49: 1-6.
256. **Scaltsoyiannes A., Tsoulpha P., Panetsos K.P. & Moulalis D. (1997).** Effect of genotype on micropropagation of walnut trees (*Juglans regia*). *Silvae Genet.* 46: 326-332.
257. 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.
258. Schafer-Menuhr A., Schumacher H.M., Mix-Wagner G. (1997). Cryopreservation of potato cultivars-design of a method for routine application in genebanks. *Acta Hort.,* 447: 477–482.
259. **Seghal CB & Khurana S. (1985).** Morphogenesis and plant regeneration from cultured endosperm of *Embilica officinalis* Gaertn. *Plant Cell Reports,* 4: 263–266.
260. **Siddique N.A., Bari M.A., Khatun N., Rahman M., Rahman M.H. & Huda S. (2003).** Plant regeneration from nodal segments derived callus in *Hemidesmus indicus* (L.) R. Br (*Anantamul*) an endangered medicinal plant in Bangladesh. *J. Biol. Sci*., 3: 1158-1163.
261. **Silva L.M., Alquini Y. & Cavallet V.J. (2005).** Interrelarions in vegetal anatomy and in vegetal production. *Acta Bot. Bras*. 19: 183 – 194.
262. **Skalova I., Viehmannova I. & Vitamvas J. (2012).** *In vitro* Conservation of *Smallanthus sonchifolius* under Slow-growth Conditions**.** *Agricultura Tropica et Subtropica*, 45/3, 147-150. DOI: 10.2478/v10295-012-0024-5.
263. **Smith M.A.L., McClell M.T. & Timmermann R. (1991).** Anomalous root structure on woody plants in vitro. *J. Environ. Hortic.* 9: 61 – 64.
264. **Solereder, H. (1908).** Systematic Anatomy of the Dicotyledons. Oxford: Claredon Press.
265. **Sonibare M.A. & Adeniran.A.A. (2014).** Comparative micromorphological study of wild and micropropagated *Dioscorea bulbifera* Linn. *Asian Pac J Trop Biomed,* 4(3): 176-183.

266. Stevanovic V., Tan K & Iatrou G. (2003). Distribution of the endemic Balkan flora on serpentine. Obligate serpentine endemics. *Plant Syst. Evol.* 242(1-4): 149-170.
267. Street H.E.(1973). Plant Tissue and Cell Culture, vol 11: 137-142.
268. Shatnawi M.A., Shibli R., Qrunfleh I., Bataeineh 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.
269. Shuka L & Hallaçi B. (2010). Is Determined Flora and Vegetation of Mirusha (Kosovo) and Kolshi (Albania) area from the Serpetine Substrate? *BALWOIS*, 2010- Ohrid, Republic of Macedonia-25, 29 May 2010.
270. **Swanepoel DP. (1997).** The Medicinal value of the southern African Asteraceae. MSc Dissertation. University of Pretoria. South Africa.
271. **Stanwood P.C., Bass L.N. (1978).** In: Plant Cold Hardiness and Freezing Stress. Edited by PH Li and A Sakai. Academic Press, New York. pp. 361–371.
272. **Taiz L. & Zeiger E. (2006).** Plant Physiology. Fourth Edition (Chapter 5, 19, 20, 21, 26).
273. **Tassy C., Feuillet C. & Barret P. (2006).** A method for the medium-term storage of plant tissue samplesat room temperature and successive cycles of DNA extraction. *Plant Mol. Biol. Rep.* 24: 247–248.
274. **Tech V. & Seiler J. R. (2004)**. Forest Biology and and Dendrology (Chapter 5 - Plant Growth and Regulators).
275. **Tehrim S. & Sajid G.M. (2011)**. *In vitro* Establishment,Conservation and its Implications for Grape Germplasm Biodiversity. *Romanian Biotechnological Letters*, 16(6): 6781-6789.
276. **TG.et al., (1993).-** Flora Europaea:Plantaginaceae to Compositae (and Rubiaceae) v. 4: 116.
277. **Thomas TD, Bhatnagar AK, & Bhojwani SS. (2000).** Production of triploid plants of mulberry (*Morus alba* L.) by endosperm culture. *Plant Cell Reports,* 19: 395–399.
278. **Toldi O., Toth S., Ponyi T. & Scott P. (2002).** An effective and reproducible transformation protocol for the model resurrection plant *Craterostigma plantagineum* Hochst. *Plant Cell Rep*. 21: 63–69.
279. **Toldi O., Djilianov D. & Scott P. (2006).** Transgenic approach for functional analysis of genes associated with desiccation tolerance in resurrectionplants. In: Teixeria Da Silva J.A. (ed.), Floriculture, ornamental and plant biotechnology, 3. Global Science Books, UK. pp. 209-216.
280. **Toma C., Grigore MN., Afemei M. & Stãnescu IA (2010)**: Histo-anatomical considerations on some Romanian Inula L. species, with pharmacological action. Analele ştiinţifice ale Universităţii "Al. I. Cuza" Iaşi Tomul LVI, fasc. 1, s. II a. Biologie vegetală.
281. Topuzi L. (2005). Praktikum i Botanikës së Përgjithshme, F.SH.N, UT. 5-159.
282. Tutin T. G., Heywood V. H., Burges N. A., Moore D. M., Valentine D. H., Walters S. M. & Webb D. A. (1980). Flora Europaea, vol. 5, ALISMATACEAE – ORCHIDACEAE (monocotyledones). Cambridge University Press. Great Britain. 5: 35**.**

283. Tyagi R.K., Goswani R., Sanayaima R., Singh R., Tandon R. & Agrawal A. (2009). Micropropagation and slow growth conservation of cardamom (*Elettaria cardamomum* Maton). *In Vitro Cellular & Developmental Biology –Plant*, 45(6): 721-729.

284. Uddin MS., Chowdhury MSH., Khan MMMH., Uddin MB., Ahmed R & Baten MA (2006). *In vitro* propagation of *Stevia rebaudiana* Bert in Bangladesh. *Afr. J. Biotechnol*. 5(13): 1238-1240.

285. **Unamba C.I.N., Inyama C.N., Okeke S.E & Mbagwu F.N (2008).** Leaf Epidermal Features of *Ageratum conyzoides*, *Aspilia africana, Chromolaena odorata* and *Tridax procumbens* (Asteraceae). *International Science Research Journal*, 1(2): 169 - 172, ISSN: 2006 – 1730

286. **Uphof JCT. (1962).** Plant hairs, 2nd edn. Berlin: Borntraeger.

287. **Van Wyk BE, Oudtshoorn B. & Gericke N. (1997).** Medicinal plants of South Africa. Briza Publications. Pretoria, South Africa.

288. Vangjeli J., Ruci B., Mullaj A., Paparisto K & Qosja Xh. (2000). Flora e Shqipërisë, 4: 32. Akademia e Shkencave e Republikës së Shqipërisë, Instituti i Kërkimeve Biologjike, Tiranë.

289. **Vengadesan G., Ganapathi A., Prem Anand R. & Ramesh Anbazhagan V. (2000).** *In vitro* organogenesis and plant formation in *Acacia sinuata*. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 61: 23-28.

290. **Von Wiren N., Gazzarrini S. & Frommer W.B. (1997).** Regulation of mineral nitrogen uptake in plants. *Plant and Soil*, 196: 191-199.

291. **Walter K**. **S & Gillet H. J** [edsw]. **(1997).** IUCN Red List of Threatened Plants. Complied by the World Conservation Monitoring Centre. IUNC- The World Conservation Union, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. Ixiv+862 pp.ISBN: 2-8317-0328-x, f.150.

292. **Wanas W.H., Callow J.A. & Withers L.A. (1986)**. Growth limitation for the conservation of pear genotypes. In: Plant Tissue Culture and Its Agricultural Applications. Butterworth, London, pp. 285-290.

293. **Wang P.J. & Charles A. (1991).** Micropropagation through meristem culture. In: Bajaj, Y.P.S. eds. The Biotechnology in Agriculture and Forestry. High-Tech and Propagation, Vol. 17, Springer – Verlag Berlin, pp: 32 – 52.

294. **Wang Q., Tanne E., Arav A. & Gafny R. (2000).** Cryopreservation of *in vitro*-grown shoot tips of grapevine by encapsulation-dehydration. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 63: 41–46. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.

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

296. **Wilkinson H.P. (1979).** The plant surface (Mainly leaf). Anatomy of the dicotiledons. Metcalf, 2nd edition, Vol. 1, Oxford.

297. **Winkelmann T., Geier T. & Preil W. (2006).** Commercial *in vitro* plant production in Germany in 1985-2004. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.,* 86: 319-327.

298. **Woodward F.I. & Bazzas F. (1988).** The responses of stomata al density to CO_2 Partial pressure. *J. Exp. Bot.*, 39: 1771-1781.

299. **Woodward F.I. (1987).** Stomatal number is sensitive to increases in CO_2 from pre-industrial levels. *Nature*, 327: 617-618.

300. **Withers L. (1979).** Freeze preservation of somatic embryos and clonal plantlets of carrot (*Daucus carota* L.). Plant Physiol., 63: 460–467.
301. **WU HC. (2001).** Micropropagation of *Protea cynaroides* L. M. Inst. (Agrar) Dissertation. University of Pretoria. Pretoria, South Africa.
302. **Yadav P & Nayak S. (2011):** Microscopic studies of *Tridex procumbens* Linn. *Bulletin of Pharmaceutical Research*, 1(2): 25-32. ISSN: 2249-9245.
303. **Yang Y.,Hsing Y. & Chang W. (1981).** Clonal propagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni through axillary shoot proliferation *in vitro*. *Bot. Bull. Academia Sinica*, 22: 57-62.
304. **Yeung E.C. (1998).** A beginner's guide to the study of plant structure. Tested studies for laboratory teaching, Volume 19. Proceedings of the 19th Conference of the Association for biology laboratory education (ABLE).
305. **Yildirim H., Ozden-Tokatli Y., Tilkat E., Akdemir H., Süzerer V. & Onay A. (2009)**. Micrografting of Almond (*Prunus dulcis* Mill) cultivars "Ferragnes" and "Ferraduel". 5th International Symposium on Pistachios and Almonds – *ISHS* – Sanliurfa – Turkey, Oct.06-10, 2009, *Book of Abstracts*, p.87.
306. **Yokota Sh., Karim M.Z., Azad M.A.K., Rahman M.M., Eizawa J., Saito Y., Ishiguri F., Iizuka K., Yahara Sh. & Yoshizawa N. (2007).** Histological observation of changes in leaf structure during successive micropropagation stages in *Aralia elata* and *Phellodendron amurense. Plant Biotechnology*, 24, 221–226.
307. **Zand A., Babaei A.,Omidbaigi R & Daneshfar E. (2014).** Study on callus induction and plant regeneration of *Leuzea carthamoides* via tissue culture system. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 8(5): 260-268. DOI: 10.5897/JMPR11.610. ISSN 1996-0875.
308. **Zarinkamar F. (2007).** Stomatal Observations in Dicotyledons. *Pakistan Journal of Biological Sciences,* 10: 199-219.
309. **Zekaj Zh. (1999).** Ndryshimet histologjike gjatë kultivimit *in vitro* të eksplanteve të kiwit dhe të arrës. *Studime Biologjike* Nr. 2/1999. 39-46.
310. **Zekaj Zh., Kongjika E., Çaushi E., Preci B. (2003).** Propagation methods of the endemic and endangered *Aster albanicus* subsp. *paparistoi* Qosja species. A Project supported financially by GEF/SGP 2002. Presentation in the Workshop.
311. **Zekaj Zh. (2004).**-Shumimi "in vitro" i *Aster albanicus* subsp. *paparistoi* Qosja. Kumtesë në Workshop, PNUDI.
312. **Zekaj Zh., Mullaj A., Bacu A & Hoda P. (2007)**. Karakterizimi i disa specieve të Florës Shqiptare me metoda citologjike dhe molekulare. Akademia e Shkencave e Shqipërisë. I.K.B, Tiranë. 66-85.
313. **Zhao Zh., Zhou Y. & Grout B.W.W. (2006).** Variation in leaf structures of micropropagated rhubarb (*Rheum rhaponticum* L.) PC49. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 85: 115–121.

LISTA E SHKURTIMEVE

$HgCl_2$ ----------	Biklorur mërkuri
NaClO ----------	Hipoklorit natriumi
Terren MS ----------	Terren Murashige & Skoog
BAP ----------	6-benzilaminopurina
AIB ----------	Acidi 3-indol butirik
GA_3 ----------	Acidi giberelik
ANA ----------	Acid α-naftalen acetik
2, 4-D ----------	Acidi 2, 4-diklorfenoksiacetik
EDTA ----------	Acidi Etilen Diaminë Tetra Acetik
KNO3 ---------- ----------	Nitrati i potasiumit
et al. ---------- --	E të tjerë
ANOVA----------	Analiza e variancës
pH----------	Përqendrimi i joneve hidrogjen
% ----------	Përqind
min----------	Minuta
cm----------	Centimetër
m ---------- ----------	Metër
mm----------	Milimetër
mm^2----------	Milimetër katror
µm----------	Mikrometër
g ---------- ----------	Gram
mg ---------- ----------	Miligram
ml ----------	Mililitër
l ----------	Litër
Nr----------	Numri
Div.----------	Divjakë
Shkop.----------	Shkopet
S----------	Sipërfaqe

PËRMBLEDHJE

Specia *Aster albanicus* Degen me status subendemike, në vendin tonë përfaqësohet nga dy subspecie: *Aster albanicus paparistoi* Qosja dhe *Aster albanicus albanicus*. Subspecia *Aster albanicus paparistoi* Qosja vlerësohet si endemike, e rrallë e rrezikuar dhe me vlera biodiversiteti. Qëllimi kryesor i këtij studimi ka qenë studimi i organogjenezës *in vitro*, kultivimi dhe mikroshumimi *in vitro*, analiza e parametrave morfo-histologjikë si dhe aplikimi i metodave të ndryshme për konservimin *in vitro* të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen. Gjatë studimit të dy subspecive janë konstatuar dallime sinjifikante për P 0.05 për disa parametra morfo- histologjikë. Terrenet MS/2 dhe MS me kombinimin e fitohormoneve në raporte të ndryshme të GA_3, ANA dhe BAP, për eksplantet e sytheve, janë optimal për organogjenezën direkte të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen të kultivuara *in vitro*. Konservimi *in vitro* me metodën e reduktimit së temperaturës dhe të ndriçimit për bimëzat e të dyja subspecieve të *Aster albanicus* Degen paraqitet më i suksesshëm. Konservimi *in vitro* me metodën e reduktimit të përqendrimit të fitohormoneve ose të rregullatorëve të rritjes në terrenin ushqyes është efikas vetëm për bimëzat e *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja. Organogjeza indirekte me copa gjethesh rezulton si metodë efikase për shumimin e *Aster albanicus* Degen subsp.*paparistoi Qosja*. *Aster albanicus* Degen subsp.*albanicus* me këtë metodë reagoi deri në stadin e induktimit të kallusogjenenzës. Analizat histologjike të strukturave të organeve vegjetative (gjethe, kërcell, rrënjë) të kultivuara dhe të konservuara *in vitro*, të bimëzave të dy subspecieve të *Aster albanicus* Degen, tregojnë që kemi një zhvillim normal të eksplanteve. Llojshmëria e gojëzave dhe trikomave është në përputhje me përcaktimin e këtyre strukturave për këto subspecie në në analizat e eksplanteve bimore të studjuara *in vivo*.

Fjalëkyçe: *Aster albanicus Degen, subspecie, in vitro, organogjenezë, histogjenezë, konservim.*

ABSTRACT

The *Aster albanicus* Degen species which has a subendemic status, in our country is represented by two subspecies: *Aster albanicus paparistoi* Qosja and *Aster albanicus albanicus*. The *Aster albanicus paparistoi* Qosja subspecies is estimated to be endemic, rare, endangered and with biodiversity values. Through this study we aim at studying the *in vitro* organogenesis, *in vitro* cultivation and micropropagation, the analysis of morpho- histological parameters and the application of different methods for the *in vitro* conservation of two subspecies of *Aster albanicus* Degen. During the study of the two subspecies we have noticed significant differences for P 0.05 regarding some morpho- histological parameters. The MS/2 and MS culture media with the combination of phytohormones in different ratios of GA_3, ANA and BAP, for the explants of the buds, are best for direct organogenesis of the two subspecies of *Aster albanicus* Degen cultivated *in vitro*. The *in vitro* conservation using the method of the reduction of temperature and lighting of shoots of the two subspecies of *Aster albanicus* Degen seems to be more successful. The *in vitro* conservation using the method of reduction of concentration of the phytohormones or of the growth regulators in the culture medim is efficient only for the shoots of *Aster albanicus* Degen subsp. *paparistoi* Qosja. The indirect organogenesis with bits of leaves is an efficicent method for the propagation of *Aster albanicus* Degen subsp.*paparistoi Qosja*. When *Aster albanicus* Degen subsp.*albanicus* was subjected to this method it reacted up to the stage of the induction of callusogenesis. The histological analysis of the structures of vegetative organs (leaves, stalk, roots) cultivated and conserved *in vitro*, of the shoots of two subspecies of *Aster albanicus* Degen, show that there is a normal development of the explants. The variety of stomata and trichomes is in accordance with the definition of these structures for these subspecies during the analysis of the explants studied *in vivo*.

Keywords: Aster albanicus Degen, subspecies, in vitro, organogenesis, histogenesis, conservation.