

REZUMAT

Cuvinte cheie: toxicitate, alergenitate, plante floricole, *Asteraceae*, metaboliți secundari, sescviterpenlactone, alantolactonă, polifenoli, fertilizare, biosinteză, CSS, HPLC.

Cercetările care fac obiectul tezei de doctorat își propun să studieze alergenitatea și toxicitatea speciilor floricole, corelat cu valorificarea acestor plante și riscurile potențiale pentru sănătate. Șase specii de plante ornamentale din familia *Asteraceae* (*Calendula officinalis*, *Carthamus tinctorius*, *Echinacea purpurea*, *Rudbeckia hirta*, *Tagetes erecta*, *Chrysanthemum indicum*), cu utilizări multiple (alimentare, medicinale, cosmetice etc.), au fost evaluate cu scopul de a identifica potențialul alergic al acestora, determinat de conținutul în sescviterpenlactone metilate (exprimat ca și alantolactonă). Posibilitățile de valorificare a extractelor vegetale au fost investigate prin cercetarea conținutului în compuși bioactivi din clasele polifenolilor și terpenoidelor. Capacitatea biosintetică pentru metaboliții secundari cercetați a fost analizată în funcție de fenologia plantei și organul din care s-au prelevat probele, precum și de tehnologia aplicată culturilor (administrarea fertilizanților).

Pentru atingerea scopului propus prin teza de doctorat, au fost stabilite următoarele obiective generale:

1. identificarea compușilor toxici și alergeni din speciile floricole, a mecanismelor de patogenitate și a riscurilor potențiale pentru sănătate;
2. studiul condițiilor de cadru natural în care s-au desfășurat cercetările;
3. studiul comportării speciilor studiate în condițiile aplicării fertilizanților cu eliberare controlată;
4. cercetarea potențialului alergic al speciilor studiate și a capacității de biosinteză pentru sescviterpenlactone (exprimate ca și alantolactonă), precum și pentru acizi triterpenici (acid ursolic și acid oleanolic);

5. evaluarea spectrului compușilor antioxidanți din clasa polifenolilor (polifenol flavone și acizi polifenolcarboxilici) în extractele vegetale din plantele studiate, precum și determinarea conținutului în polifenoli totali;

6. evaluarea și formularea unor modalități de reducere a riscurilor în utilizarea și comercializarea plantelor ornamentale potențial alergenice și toxice;

Teza de doctorat intitulată **”Cercetări privind utilizarea și valorificarea plantelor ornamentale cu proprietăți alergenice și toxice”** este structurată în două părți și cuprinde nouă capitole. Prima parte a lucrării cuprinde ”Introducerea” și două capitole referitoare la stadiul actual al cunoașterii problematicei abordate, iar partea a doua reprezintă cercetările proprii, prezentate în șapte capitole cărora li se adaugă ”Concluziile și recomandările”.

În capitolul 1 – **”Plantele toxice și compuși toxici biosintetizați”** – se definesc termenii specifici, se descriu metaboliții secundari vegetali cu prezentarea datelor generale despre sinteza și dinamica lor, rolul în viața plantei, rolul economic precum și importanța în taxonomie și sistematică. De asemenea, sunt descrise efectele compușilor secundari de metabolism asupra organismului uman, simultan cu evaluarea riscului pentru sănătate. Stadiul actual al cercetărilor privind clasificarea compușilor toxici din plante este sintetizat în cuprinsul acestui capitol, încheiat cu prezentarea reglementărilor legislative și comerciale privind utilizarea și valorificarea plantelor toxice și alergenice, precum și etichetarea speciilor ornamentale cu risc potențial pentru sănătate.

Capitolul 2 – **”Aspecte fitochimice ale plantelor din familia Asteraceae”**- prezintă aspecte generale despre metaboliții secundari sintetizați de plantele care aparțin familiei *Asteraceae*, cu descrierea sescviterpenlactonelor (în particular alantolactona) și polifenolilor. Alergenitatea plantelor acestei familii este analizată prin prisma conținutului în sescviterpenlactone metilate. Capitolul se încheie cu trecerea în revistă a particularităților fitochimice ale speciilor incluse în studiu, precum și cu prezentarea posibilităților de valorificare și a riscurilor potențiale pentru sănătate prin utilizarea acestora.

”Scopul și obiectivele cercetării” precum și **”materialul și metodele de cercetare”** sunt detaliate în capitolul 3. Obiectivele generale sunt enumerate în paralel cu activitățile de cercetare specifice, metodele și tehnicile de cercetare precum și cu indicatorii de realizare estimați.

În vederea realizării experiențelor s-a optat pentru șase specii floricole din familia *Asteraceae* (trei anuale și trei perene), cunoscute ca plante cu multiple utilizări și frecvent întâlnite în grădinile românești: *Chrysanthemum indicum*, *Rudbeckia hirta*, *Echinacea purpurea*, *Tagetes erecta*, *Carthamus tinctorius*, *Calendula officinalis*. Cercetarea a parcurs două etape: în

prima etapă s-au evaluat caracterele ornamentale ale plantelor din culturile experimentale înființate în câmpul didactic al Facultății de Horticultură, disciplina Floricultură, iar în a doua etapă, probele recoltate de la aceste plante au fost supuse determinărilor fitochimice (separare/concentrare, identificare calitativă, semicantitativă și/sau cantitativă) în cadrul Laboratorului de Farmacognozie al Facultății de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Gr. T. Popa" din Iași. Etapele preliminare ale studiului au fost realizate atât în cadrul laboratorului menționat, cât și în cadrul Centrului de Cercetări Horticole al Facultății de Horticultură, Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară Iași.

Variantele din câmpul experimental au fost organizate după schema blocurilor randomizate cu trei repetiții și au urmărit determinarea influenței fertilizării cu îngrășământ cu eliberare controlată NPK(Mg)/15:10:12(2) asupra morfologiei și fenologiei plantelor precum și asupra profilului compușilor fenolici de tipul flavonoidelor și acizilor polifenolcarboxilici, al concentrației polifenolilor totali și al profilului și concentrației alantolactonei, în probele recoltate din părțile aeriene ale plantelor din culturile experimentale.

Metodele generale de cercetare au inclus studiul bibliografic, experimentul, observația, precum și analiza, sinteza și comparația (ca și metode de prelucrare a informațiilor). Pentru realizarea obiectivelor tezei, s-au utilizat metode și tehnici de lucru specifice: tehnici de biometrie, tehnici pentru analize calitative (cromatografia în strat subțire, CSS), tehnici pentru analize cantitative (determinări spectrofotometrice), tehnici pentru analize semicantitative (cromatografia în fază lichidă de înaltă performanță, HPLC), metode de prelucrare statistică a datelor.

Rezultatele măsurătorilor biometrice sunt exprimate ca media anilor de cultură. Analizele cantitative și semicantitative au fost efectuate repetitiv ($n=3$) și exprimate ca medie $\pm$ deviația standard. Mediile și deviațiile standard au fost calculate cu Microsoft Office Excel. Semnificațiile au fost interpretate utilizând metoda diferențelor limită (Ardelean *et al.*, 2007). Variantele experimentale au fost comparate cu media lor. Analizele calitative au fost efectuate de trei ori, iar cromatogramele obținute (CSS) au fost comparate cu baze de date (Wagner și Bladt, 2001).

În capitolul 4 sunt descrise "**condițiile de cadru natural**" specifice zonei de desfășurare a experimentului precum și "**cadrul organizatoric și instituțional**" de desfășurare a cercetărilor. Datele generale cuprind coordonate topografice, pedologice, hidrografice, hidrologice și climatice. Sunt centralizați parametrii climatici – temperatură, precipitații – înregistrați în anii de



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



Universitatea de Științe Agricole și
Medicină Veterinară din Cluj-Napoca

studiu 2012-2015, comparați cu normala. De asemenea, sunt prezentate și principalele însușiri fizico-chimice ale solului din câmpul experimental.

Capitolul 5 prezintă **contribuțiile ”la caracterizarea profilului toxic și alergen al plantelor floricole”**. Studiul toxicității plantelor floricole a avut ca scop să identifice și să clasifice fitochimic compușii alergeni și toxici din aceste plante, să precizeze principalele mecanisme de patogenitate, să evalueze riscurile pentru sănătatea umană și să creeze o bază de date cu cele mai comune plante ornamentale cu potențial toxic sau alergen existent în flora spontană sau cultivată a României. Capitolul cuprinde clasificări ale constituenților cu potențial toxic, alergen sau iritant din plantele floricole, alături de o descriere sintetică a profilului toxic și alergen la 70 de specii de plante ornamentale frecvent întâlnite în România.

În capitolul 6 sunt prezentate **”rezultatele și discuțiile cu privire la influența fertilizării asupra caracterelor morfologice și a dinamicii fenofazelor la speciile studiate”**. Administrarea de Osmocote (NPK–15:10:12) este corelată pozitiv cu ramificarea tulpinilor, creșterea masei vegetative și a numărului de inflorescențe la toate speciile studiate. În schimb, determină diferențe între specii în privința diametrului inflorescențelor, diminuarea acestuia la *Chrysanthemum* și creșterea la *Rudbeckia*, sau lipsa influenței semnificative la celelalte specii. În plus, la variantele fertilizate se observă o devansare cu 2-7 zile a declanșării fenofazelor de formare a bobocilor floriferi și de înflorire.

Capitolul 7 - **”Rezultate și discuții privind profilul alantolactonei și al acizilor triterpenici în speciile studiate”**- cuprinde rezultatele obținute din efectuarea analizelor calitative și semicantitative pentru identificarea și cuantificarea alantolactonei și al estimărilor calitative pentru acizi triterpenici. Aspectul general al cromatogramelor a indicat prezența alantolactonei (R_f 0,74) dar și a altor sescviterpenlactone care au migrat în zone $R_f > 0,74$ pentru care nu au fost disponibile etaloane. Pentru confirmarea rezultatelor cromatografiei în strat subțire și efectuarea unei estimări semicantitative, probele au fost analizate prin metoda HPLC. Analiza a confirmat prezența alantolactonei la nivelul unor valori mici, în toate speciile studiate. La plantele nefertilizate, cel mai bogat conținut în acest compus s-a identificat în frunzele și tulpinile mature de *Calendula* (6,0045 μ g/100g), în bobocii floriferi de *Calendula* (0,9472 μ g/100g) și inflorescențele deschise de *Chrysanthemum* (1,2751 μ g/100g). Prezența alantolactonei avertizează asupra potențialului alergen al plantelor ce conțin acest metabolit secundar, dovedit a fi implicat în producerea dermatitelor alergice de contact.

Prin analiză calitativă s-a urmărit și evidențierea profilului unor acizi terpenici (acid ursolic, acid oleanolic), importanți prin acțiunea farmacodinamică potențială. Acidul ursolic (R_f





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI

Fondul Social European
POSDRU 2007-2013Instrumente Structurale
2007-2013MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRUUniversitatea de Științe Agricole și
Medicină Veterinară din Cluj-Napoca

= 0,40) a fost evidențiat în inflorescențele deschise de *Tagetes*, iar acidul oleanolic ($R_f = 0,58$) este prezent în inflorescențele deschise și bobocii floriferi de *Calendula*, în frunzele și tulpinile de *Carthamus*, inflorescențele deschise de *Echinacea* și în toate organele plantei la *Rudbeckia*.

”Rezultatele și discuțiile privind profilul fenolic și conținutul total de polifenoli în speciile studiate” sunt incluse în capitolul 8. Cercetările au confirmat că spectrul flavonoidelor și acizilor polifenolcarboxilici prezintă particularități în funcție de specie, organ, fenofază și regimul nutritiv aplicat. Compușii cu spoturi cromatografice intense prezenți în probele cercetate sunt rutozida, apigenol-7-glucozida, narcisina și izoramnetil-rutinozil-glucozida la *Calendula*; echinacozida și derivații săi, cinarina și acidul cioric la *Echinacea*; acidul ferulic și derivatul glicozidat al luteinei la *Tagetes*; cvarcetol-3-0-glucuronida la *Carthamus*; hiperozida la *Rudbeckia*; derivații de izoramnetol și derivații de luteolină la *Chrysanthemum*. Inflorescențele conțin un spectru fenolic mai bogat decât frunzele și tulpinile la cartamus și rudbechii, în timp ce la echinacea, calendula și crăițe profilul fenolic este mai bine reprezentat în organele vegetative. Fertilizarea poate modifica spectrul compușilor polifenolici, cromatogramele obținute relevând că plantele pot pierde sau câștiga metaboliți specifici, sub influența nutrienților administrați. Studiul conținutului de polifenoli totali prezenți în probele recoltate de la speciile cercetate a evidențiat un comportament diferit al acestora, în funcție de organ sau fertilizare. Dintre plantele nefertilizate, *Rudbeckia* are inflorescențele cele mai bogate în polifenoli totali, urmată de *Tagetes*, *Echinacea*, *Calendula*, *Chrysanthemum* și *Carthamus*. Clasamentul diferă pentru frunze și tulpini, ordinea descrescătoare fiind *Tagetes*, *Rudbeckia*, *Carthamus*, *Calendula*, *Echinacea* și *Chrysanthemum*.

Conținutul în polifenoli totali are valori cuprinse între 1146 mg% și 145 mg% în inflorescențe și respectiv între 483 mg% și 79,82 mg% în frunze și tulpini nefertilizate (exprimate ca mg GAE/100 g substanță vegetală uscată). Sub influența fertilizării, polifenolii totali din părțile vegetative scad la plantele anuale și cresc la cele perene, în timp ce în inflorescențe pot avea dinamici diferite.

Cercetările prezente demonstrează că asteraceele studiate sunt bogate în compuși de tipul flavonoidelor și acizilor polifenolcarboxilici, fiind o sursă reprezentativă de compuși antioxidanți. Analiza simultană a parametrilor morfologici și fitochimici în relație cu nutrienții aplicați a evidențiat aspecte particulare privind fiziologia și biochimia acestor specii.

În capitolul 9, intitulat **”Modalități de reducere a riscurilor în utilizarea și comercializarea plantelor ornamentale potențial alergenice și toxice”** este prezentat un sistem de etichetare și comunicare a riscului pentru sănătate în domeniul comercializării și





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



Ministerul Agriculturii și Dezvoltării Rurale

valorificării speciilor floricole. De asemenea, sunt formulate criterii pentru valorificarea în scop decorativ a plantelor potențial alergenice și toxice.

Concluziile care au fost desprinse din studiile efectuate sunt formulate la finalul tezei, împreună cu **recomandările** privind utilizarea și valorificarea plantelor ornamentale cu proprietăți alergenice și toxice.

Prin aspectele abordate, lucrarea se adresează atât specialiștilor din diverse domenii (horticol, peisagistic, farmaceutic, sănătate publică, medical), cât și persoanelor interesate de asigurarea biosecurității în mediul ambiental.

Teza de doctorat se încheie cu **bibliografia**, care conține lista materialelor documentare din țară și străinătate consultate pe parcursul elaborării tezei și care au fost citate în lucrare.

