

## REZUMAT

În cadrul cercetărilor întreprinse pentru teza de doctorat, au fost alese pentru studiu, două specii din familia *Lamiaceae*, respectiv, *Ocimum basilicum* L., *Dracocephalum moldavica* L., și două specii din familia *Asteraceae*, respectiv, *Calendula officinalis* L., *Cynara scolymus* L. **Scopul cercetărilor** îl constituie stabilirea influenței unor fertilizanți foliari ecologici asupra producției și calității acestora la speciile studiate, în condițiile pedoclimatice de la Iași.

**Obiectivele** aferente realizării scopului propus au fost:

1. Precizarea influenței fertilizanților foliari ecologici asupra producției la speciile studiate
2. Determinarea influenței fertilizării foliare ecologice asupra proceselor fiziologice la speciile studiate
3. Evidențierea influenței produselor ecologice utilizate asupra unor metaboliți la speciile studiate
4. Stabilirea influenței fertilizării ecologice asupra uleiurilor volatile sau a altor compuși din speciile studiate.

Teza este structurată în **două părți și șapte capitole**.

**Prima parte a tezei** cuprinde **două capitole** cu referiri la stadiul actual al cercetărilor privind tehnologiile în sistem ecologic, prin comparare cu cele convenționale, precum și al cercetărilor asupra utilizării fertilizanților ecologici în cultivarea plantelor medicinale. Ultimul capitol al primei părți, respectiv **al treilea capitol al tezei**, face câteva referiri asupra tehnologiilor de cultivare în sistem ecologic a speciilor studiate: busuioc (*Ocimum basilicum* L.), mățăciune (*Dracocephalum moldavica* L.), gălbenele (*Calendula officinalis* L.), anghinare (*Cynara scolymus* L.).

**A doua parte a tezei**, structurată în **patru capitole**, cuprinde detalii privind contribuțiile proprii aduse în cadrul demersului de cercetare.

Astfel, **al patrulea capitol** al tezei precizează scopul, obiectivele și importanța cercetărilor întreprinse. Materialul biologic utilizat a constat din semințe ale speciilor studiate, iar pentru fertilizarea foliară a fost utilizată apă pentru plantele martor și patru fertilizanți foliari ecologici: Fylo®, Geolino Plants & Flowers®, Cropmax®, Fitokondi®.

Metoda de așezare a experiențelor în câmpul experimental a fost sub formă de parcele subdivizate, iar înființarea experiențelor s-a realizat la date calendaristice specifice fiecărei specii studiate.

Fertilizarea a fost aplicată în fenofaze diferite pentru fiecare specie în parte: pentru busuioc, mățăciune și gălbenele, la începutul vegetației (2-3 perechi de frunze), la apariția tijeii florifere, în timpul înfloririi, iar pentru anghinare, la începutul vegetației (2-3 perechi de frunze) și în timpul dezvoltării vegetative (6-8 frunze).

Experiența a fost una bifactorială, iar factorii cercetați la speciile studiate au fost:

• **Factorul A – Fertilizarea ecologică, cu 5 graduări:**

- a1 - Martor (stropit cu apă)
- a2 - Fylo
- a3 - Geolino Plants&Flowers
- a4 - Cropmax
- a5 - Fitokondi

• **Factorul B – Numărul de aplicări, la fiecare fertilizare, cu 2 graduări:**

- b1- doză întreagă aplicată o singură dată
- b2 - câte o jumătate de doză, aplicată de două ori, în timpul aceleași fenofaze, la interval de 7 zile.

În același capitol, sunt detaliate și metodele de cercetare întreprinse în laborator, respectiv: **metode fiziologice** utilizate pentru determinarea fluorescenței clorofilene, intensității procesului de fotosinteză, cantității de pigmenți asimilatori, **metode biochimice** (determinarea conținutului de fenoli, flavonoide, a activității antioxidante), **metode de extracție și analiză cantitativă și calitativă a uleiurilor esențiale** (metoda gravimetrică, GC-MS), **metode cromatografice pentru izolarea unor compuși noi sau analiza unor compuși din plantele studiate sub influența fertilizării ecologice** (SilicaGel, Sephadex, TLC, HPLC, LC-MS, CCS, SemiPrep, PrepChrom), **metode statistice** de prelucrare a rezultatelor.

**Capitolul al cincilea** descrie cadrul natural și instituțional unde s-au desfășurat cercetările din perioada 2014-2017, respectiv, în cadrul Câmpului experimental al disciplinei de Fitotehnie ce aparține Stațiunii Didactice „Vasile Adamachi”, iar analizele în cadrul a trei laboratoare: Laboratorul de biomonitorizare și remediere a calității mediului din cadrul CERNESIM - Universitatea "Alexandru Ioan Cuza" din Iași, Laboratorul de Chimia produselor naturale și chimie analitică - MAICH, Chania, Creta, Departamentul Farmacie Biologie, Universitatea Christian-Albrecht din Kiel, Germania.

**Capitolul al șaselea** cuprinde **rezultatele cercetărilor** desfășurate pentru fiecare specie în parte, cu privire la influența fertilizanților foliari ecologici asupra **producției, proceselor fiziologice, activității antioxidante și a conținutului de polifenoli, asupra cantității și/sau compoziției uleiului esențial, precum și a unor compuși principali din materialul vegetal.**

**La specia *Ocimum basilicum* L.**, aplicarea fertilizanților foliari ecologici a dus la creșteri ale producției, în medie, pe cei doi ani de experiență, cuprinse între 21% și 40%, la toate variantele fertilizate obținându-se diferențe pozitiv foarte semnificative față de martor. Doza fracționată a avut, în medie, pe cei doi ani, diferență negativ foarte semnificativă, cele mai mari producții înregistrându-se la variantele unde a fost aplicată doza întreagă de îngrășământ (recomandată de producător).

În ceea ce privește interacțiunea fertilizant x doză, în medie, pe cei doi ani experimentali, la majoritatea variantelor s-au înregistrat diferențe pozitiv foarte semnificative față de martor. Producții mai mari obținute la fertilizantul Fitokondi (în medie 31489,3 kg/ha), se datorează probabil și biohumusului din compoziția sa, alături de celelalte micro și macroelemente.

Intensitatea fotosintezei plantelor de busuioc a fost influențată în sens pozitiv, diferențiat, în anul 2015, de către fertilizanzii Fylo și Geolino, iar în 2016, de Cropmax și Fitokondi, probabil și datorită condițiilor climatice diferite din cei doi ani de experimentare, care au condiționat implicit și stabilirea momentelor efectuării citirilor și a înregistrării datelor. Cât privește influența compoziției chimice a fertilizanților asupra procesului de fotosinteză, am putea spune că intensitatea fotosintezei mai ridicată la plantele tratate cu Fylo se datorează probabil prezenței semnificative a macroelementelor, a carbonului organic și a numeroaselor vitamine. Fitokondi conține mai mult potasiu, ceea ce ar putea sublinia faptul că, la busuioc, este influențat transportul asimilatelor. Cropmax-ul conține mult magneziu, fier, mangan și zinc, ceea ce influențează fotosinteza, per ansamblu, chiar dacă nu sunt diferențe în momentul determinărilor.

Valorile fluorescenței clorofilene la cultura de busuioc, în general, nu au fost influențate semnificativ de către tratamentele cu fertilizanzii foliari ecologici, aceștia neexercitând efecte considerabile asupra eficienței aparatului fotosintetic.

În general, conținutul de compuși fenolici și de flavonoide a fost stimulat la cultura de busuioc fertilizat în comparație cu martorul, timp de doi ani consecutiv, creșteri procentuale cuprinse între 24% și 47%.

Potențialul antioxidant al extractului de busuioc a înregistrat, în general, valori mai mari la plantele tratate cu fertilizanzii ecologici, deși diferențele nu au fost semnificative din punct de vedere statistic. În ambii ani, tratamentul cu Fitokondi a obținut valori mai mari, urmat de cel cu Geolino și Fylo, în comparație cu plantele martor.

Atât în anul 2015, cât și în anul 2016, conținutul de ulei esențial din florile și frunzele uscate de busuioc a fost influențat de aplicarea fertilizanților foliari ecologici. Conținutul de uleiuri esențiale este cuprins între 0.2% și 0.42% (pentru frunzele de busuioc) și între 0.52% și 0.69% (pentru florile de busuioc).

Analiza GC-MS indică prezența a 41 de compuși reprezentând 98.54-99.26% dintre uleiuri. Studiul nostru a demonstrat că, acei compuși predominant din uleiul esențial din toate probele analizate erau linalool (37.44-49.46%),  $\alpha$ -muurolool (11.26 – 19.26%), methyl chavicol (2.87-10.39%), eugenol (3.65-8.98%),  $\gamma$ -cadinene (3.13–4.79%),  $\alpha$ -bergamotene (3.02–4.53%), eucalyptol (1.82–4.48%), germacrene D (1.66–3.29%), cubenol (1.41–4.48%). Alți compuși au fost de asemenea prezenți în mai puțin de 2%. Aplicarea fertilizanților foliari organici a indus schimbarea conținutului individual de

compuși ai uleiului și în plus, uleiurile esențiale extrase din frunzele de busuioc tratate au prezentat o serie de compuși care nu au fost detectați în martor.

Prin analize de tip LC-MS, la specia *Ocimum basilicum* L., s-a evidențiat influența fertilizării ecologice care, la anumite variante de tratament, a produs creșteri, dar și descreșteri ale concentrației unor compuși specifici quercitrin, acidul rosmarinic rutin, existenți în frunze sau flori.

**În cazul speciei *Dracocephalum moldavica* L.**, în medie, pe cei doi ani, în condițiile experimentale de la Iași, la trei variante fertilizate s-au obținut producții cu diferențe pozitiv foarte semnificative față de martor, iar la una producții cu diferențe pozitiv distinct semnificative. Eficiența tuturor fertilizanților foliari ecologici a fost pusă în evidență prin creșterea producției comparativ cu martorul având valori între 33% și 13%. Stimulatorii vegetali de creștere existenți în compoziție au determinat probabil o creștere a producției la plantele fertilizate cu Cropmax (14823,4 kg/ha) comparativ cu celelalte variante de tratament.

Referitor la modul de aplicare a fertilizanților, la mățăciune, atât în anul 2015, cât și în anul 2016, producțiile cele mai mari de 16616,7 kg/ha (2015) și 17790,0 kg/ha (2016), au fost obținute la variantele unde a fost aplicată doza întreagă de îngrășământ (martor).

În ceea ce privește intensitatea fotosintezei și a fluorescenței plantelor de mățăciune, în anii 2015-2016, valori mai mari au fost înregistrate la fertilizanții cu un conținut mai ridicat de azot, diferențele dintre rezultate nefiind însă, semnificative din punct de vedere statistic.

Sinteza compușilor fenolici în plantele de mățăciune, timp de doi ani de cultivare, a fost mărită prin fertilizare foliară ecologică. În anul 2015, s-au înregistrat creșteri ale conținutului de flavonoide cuprinse între 21,5% (Geolino) și 56% (Fitokondi), iar în 2016, același conținut a fost mai mare cu 13,3% (Fylo) și 66,8% (Fitokondi). Conținutul total de fenoli a fost majorat prin utilizarea fertilizanților foliari, în anul 2015 cu 34% (Fitokondi) și 37% (Fylo), în timp ce în 2016 creșterile au variat între 30,2% (Geolino) și 50% (Cropmax).

Metodele gravimetrice și analizele GS-MS efectuate au subliniat influența fertilizanților foliari ecologic asupra conținutului de ulei, concentrației principalilor compuși din uleiul esențial extras din frunzele și florile de *Dracocephalum moldavica* L.

Astfel, conținutul de ulei din frunzele de mățăciune, a înregistrat creșteri procentuale semnificative în cazul aplicării a doi dintre fertilizanți, respectiv Cropmax (0,20%) și Fitokondi (0,23%).

Variația procentuală a producției de ulei și a unor compuși din uleiul esențial de *Dracocephalum moldavica* L., poate fi pusă pe seama compoziției fertilizanților, dar și a condițiilor, pedoclimatice, a tehnicilor agricole sau a factorilor ecologici; ținând cont de toți acești factori se poate spune că uleiul de mățăciune își poate schimba compoziția, principalii compuși identificați fiind geranil acetat, geranial, neral, urmați de geraniol și neril acetat. Diferența de compoziției este relevată de alte studii care au evidențiat alți compuși principali precum citral, linalol.

Prin analize de tip LC-MS, în frunzele de *Dracocephalum moldavica* L., s-a evidențiat cum fertilizarea foliară ecologică a produs o scădere a concentrației unor compuși specifici precum apigenin, luteolin. De asemenea, în florile de *Dracocephalum moldavica* L., compușii supuși analizei influenței fertilizării ecologice au fost retinal, apigenin, komarovinone A, având concentrații mai mici în probele fertilizate Fylo, Geolino și Cropmax comparativ cu martorul. Fitokondi a crescut concentrațiile compușilor comparativ cu martorul.

Prin cromatografie în strat subțire și cromatografie lichidă de înaltă performanță, s-a început izolarea unor diterpene din herba uscată de *Dracocephalum moldavica* L. Datele obținute până acum relevă posibila identificare a trei compuși, pentru ceilalți nefiind suficientă substanță care să poată fi izolată pentru elucidarea structurii, urmând ca cercetările să poată continua.

În medie, în anii 2015-2016, la producția de inflorescențe proaspete de *Calendula officinalis* L., s-au înregistrat creșteri procentuale la variantele fertilizate foliar cuprinse între 18% și 29%, comparativ cu martorul.

În timpul celor doi ani de cercetare experimentală în câmp, aplicarea dozei întregi de îngrășământ, a înregistrat o producție medie de 7884,7 kg/ha, inflorescențe proaspete, fiind mai mare

decât doza fracționată; interacțiune doză x fertilizant a înregistrat în medie diferențe pozitiv foarte semnificative la jumătate din variantele de tratament

Pentru asigurarea unui maxim al productivității se recomandă recoltarea la 2-3 zile în perioadele cu temperaturi mari, ajungându-se la 4-5 zile, în funcție de condițiile climatice. Eșalonarea și dinamica producției evidențiază un maxim al acesteia care s-a obținut, în anul 2015, în perioada 15-31 august, iar în anul 2016, în perioada 1-15 iulie.

Cu toate că procesele fiziologice (fotosinteză, fluorescență, pigmenți clorofilieni) au variat la plantele de gălbenele, acestea nu au indus modificări negative la metabolismul primar (creștere, dezvoltare), ci modificările au fost mai pronunțate la metabolismul secundar, astfel conținutul total de fenoli și flavonoide, activitatea antioxidantă, precum și cantitatea de ulei a crescut la unele tratamente față de martor.

Spre exemplu, în primul an, cel mai mare conținut total de fenoli (+ 51%), de flavonoide (+ 84%) precum și valoarea cea mai ridicată a activității antioxidante (+ 43%), a fost obținută în plantele de gălbenele fertilizate cu Fitokondi, în comparație cu martorul. În al doilea an, măsurătorile lunare au arătat că cel mai mare conținut total de flavonoide (36,4 mg quercetină / g greutate uscată) și cea mai mare capacitate de eliminare a radicalilor liberi (83%) au fost înregistrate în luna septembrie pentru tratamentul Geolino în timp ce conținutul total de fenoli maxim (6,7 mg acid galic / g greutate uscată) a fost înregistrată în luna iulie. Fertilizarea, în anumite luni, a dus la o creștere a conținutului total de flavonoide (cu maximum 53%) și de fenoli (cu 60%), sub tratament Cropmax, în timp ce activitatea antioxidantă a fost îmbunătățită în special prin Fitokondi, cu o creștere de 100% comparativ cu martorul.

**La cultura de *Cynara scolymus* L.**, condițiile de fertilizare și irigare, modul de tăiere, perioada de recoltare, precum și condițiile climatice din cei doi ani de experimentare, au determinat obținerea unor producții cuprinse în medie între 35-40 t/ha, creșterile procentuale la plantele fertilizate comparativ cu martorul fiind cuprinse între 14%-39%.

Cât privește modul de aplicare a fertilizanților, în medie, în cei doi ani de experiment, doza fracționată a avut influență negativ foarte semnificativă, cele mai mari producții înregistrându-se la plantele fertilizate cu doza întreagă de îngrășământ (cea recomandată de producător).

În general, plantele de anghinare au avut condiții optime de creștere, iar variațiile proceselor fiziologice sunt în limitele normale, valorile mai mici, arătând faptul că fertilizanții nu au indus stare de stres la plante.

În medie, în cei doi ani 2015-2016, fertilizanții foliari ecologici au favorizat, în general, un conținut mai mare de flavonoide și fenoli la plantele de anghinare.

Fertilizarea ecologică a crescut concentrația unor compuși specifici din frunzele de anghinare, respectiv, cynarina, luteolină-7-o-glucozidă, acidul chlorogenic, compuși recunoscuți pentru rolul major în combaterea unor boli hepatice sau a cancerului.

Concluziile generale ale tezei exprimate în **capitolul al șaptelea**, reliefează atingerea scopului și obiectivelor cercetărilor realizate, precum și deschiderea unor noi perspective de abordare sau continuarea investigațiilor în plan practic pentru alte studii sau cercetări comparative.