

**UNIVERSITATEA „ALEXANDRU IOAN CUZA” DIN IAȘI
FACULTATEA DE BIOLOGIE
ȘCOALA DOCTORALĂ DE BIOLOGIE**

**CERCETĂRI INTERDISCIPLINARE PRIVIND BIOLOGIA
UNOR TAXONI AI GENULUI *LAVANDULA* L. CULTIVAȚI
ÎN ROMÂNIA**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**Conducător de doctorat:
PROF. UNIV. DR. EMERIT
MARIA - MAGDALENA ZAMFIRACHE**

**Student-doctorand:
GABRIELA – ALINA ȘTEFAN**

**IAȘI
2022**

MULȚUMIRI

La elaborarea tezei de doctorat, pe lângă efortul personal, întreg procesul de cercetare, scriere, prezentare și susținere a acestei lucrări nu puteau fi posibile fără sprijinul, ajutorul, sfaturile și îndrumarea unor cercetători și colaboratori, cât și colegi, prieteni și familie. Acestor oameni de excepție, care mi-au dăruit din cunoștințele lor și m-au susținut în elaborarea tezei, doresc să le aduc recunoștința mea.

Doresc să-mi exprim respectul și prețuirea față de conducătorul științific al tezei de doctorat, doamna Prof. univ. Dr. Maria - Magdalena Zamfirache, pentru sprijinul acordat, pentru îndrumare, răbdare și tactul în corectarea stângăciilor din materialele predate, pentru informațiile oferite și încrederea acordată pe parcursul elaborării și finalizării acestei teze.

Mulțumesc membrilor Comisiei de Îndrumare: domnul Prof. univ. Dr. Habil Lucian – Dragoș Gorgan, doamna Conf. univ. Dr. Lăcrămioara Ivănescu și doamnei Prof. univ. Dr. Zenovia Olteanu, pentru disponibilitatea, îndrumarea atentă și sugestiile oferite pe parcursul studiilor doctorale și pe parcursul realizării tezei de doctorat.

De asemenea, doresc să adresez respectuoase mulțumiri membrilor comisiei de Referenți pentru amabilitatea de a analiza această lucrare.

Cu deosebită plăcere le mulțumesc colaboratorilor: doamna Prof. univ. Dr. Anca Miron și doamnei Conf. univ. Dr. Ana Clara Aprotosoai de la Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Grigore T.Popa” Iași pentru analiza probelor de ulei volatil.

Mulțumirile mele și recunoștința se adresează doamnei Nicoleta Jinga, doamnei Maria Ștefan și firmei Lavanda Bio, pentru furnizarea materialului vegetal și pentru informațiile privind cultivarea lavandei.

Mulțumiri sunt adresate și colectivelor Laboratoarelor de Anatomie și Morfologie, Fiziologie Vegetală și celui de Genetică Moleculară din cadrul Facultății de Biologie pentru excelenta colaborare pe parcursul anilor de studiu.

Totodată, adresez mulțumiri colegilor și prietenilor, în mod deosebit domnului CS III Dr. Mitică Ciorpac și colegilor doctoranzi Ozana – Maria Petraru, Loredana Mihaiela Dragoș și Ștefan Olaru pentru îndrumarea și ajutorul acordat, cât și pentru suportul oferit pe parcursul studiilor doctorale.

Dedic această lucrare familiei mele, care m-a sfătuit, m-a susținut moral și m-a ajutat în munca depusă pentru finalizarea tezei de doctorat, căreia îi mulțumesc pentru dragostea și grija necondiționată.

CUPRINSUL TEZEI

LISTA DE ABREVIERI

PARTEA I: CONSIDERAȚII TEORETICE

INTRODUCERE

CAPITOLUL 1. BIOLOGIA GENULUI *LAVANDULA L.*

1. 1. Genul *Lavandula L.* - scurt istoric taxonomic
1. 2. Caracterizarea speciilor genului *Lavandula L.*
 1. 2. 1. Încadrare sistematică
 1. 2. 2. Reprezentanți ai genului *Lavandula L.*
1. 3. Corologia genului *Lavandula L.*
1. 4. Tehnologia de cultură
 1. 4. 1. Cerințe biologice privind solul
 1. 4. 2. Mod de înmulțire
 1. 4. 3. Lucrări de îngrijire
1. 5. Utilizarea lavandei

CAPITOLUL 2. ISTORICUL CERCETĂRILOR

2. 1. Studii de micromorfologie și histo – anatomie
2. 2. Influența substanțelor nutritive
2. 3. Uleiurile volatile produse de speciile genului *Lavandula L.*
 2. 3. 1. Compoziția chimică a uleiurilor volatile
2. 4. Studii moleculare
 2. 4. 1. Biosinteza terpenelor

PARTEA A II-A: CONTRIBUȚII PERSONALE

SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRILOR

CAPITOLUL 3. ANALIZA HISTO – ANATOMICĂ ȘI MICROMORFOLOGICĂ COMPARATIVĂ A ORGANELOR VEGETATIVE ALE UNOR TAXONI AI GENULUI *LAVANDULA L.* CULTIVAȚI ÎN ROMÂNIA

3. 1. Material biologic
3. 2. Investigații histo - anatomice

3. 2. 1. Metoda și tehnica de lucru pentru realizarea secțiunilor transversale prin organele vegetative ale plantelor

3. 2. 2. Rezultate și discuții

3. 2. 2. 1. Rădăcina

3. 2. 2. 2. Rizomul

3. 2. 2. 3. Tulpina

3. 2. 2. 4. Perii secretori și protectori

3. 3. Aspecte micromorfologice

3. 3. 1. Metoda și tehnica de lucru pentru microscopia electronică de baleiaj (SEM)

3. 3. 2. Rezultate și discuții

3. 4. Concluzii preliminare

CAPITOLUL 4. MODIFICĂRI HISTO-ANATOMICE ȘI MICROMORFOLOGICE COMPARATIVE ALE ORGANELOR VEGETATIVE LA PATRU VARIETĂȚI DE *LAVANDULA ANGUSTIFOLIA* MILL. SUPLIMENTATE CU TIPURI DIFERITE DE SOLUȚIE NUTRITIVĂ HOAGLAND

4. 1. Materialul biologic și design-ul experimental

4. 1. 1. Protocolul experimental de cultivare

4. 1. 2. Compoziția chimică a soluției nutritive

4. 2. Investigații histo – anatomice

4. 2. 1. Material biologic și metodă de lucru

4. 2. 2. Rezultate și discuții

4. 2. 2. 1. Tulpina

4. 2. 2. 2. Limbul foliar

4. 3. Micromorfologia limbului foliar

4. 3. 1. Material biologic și tehnica de lucru

4. 3. 2. Rezultate

4. 3. 2. 1. *Lavandula angustifolia* - varietatea Codreanca

4. 3. 2. 2. *Lavandula angustifolia* - varietatea Provence Blue

4. 3. 2. 3. *Lavandula angustifolia* - varietatea Vera

4. 3. 2. 4. *Lavandula angustifolia* - varietatea Sevtopolis

4. 3. 3. Discuții

4. 4. Concluzii preliminare

CAPITOLUL 5. ANALIZA CANTITATIVĂ ȘI CALITATIVĂ COMPARATIVĂ A ULEIULUI VOLATIL PRODUS DE PATRU VARIETĂȚI DE *LAVANDULA ANGUSTIFOLIA* MILL. SUPLIMENTATE CU TIPURI DIFERITE DE SOLUȚIE NUTRITIVĂ HOAGLAND

5. 1. Extracția uleiurilor volatile

5. 1. 1. Material vegetal și metoda de lucru

5. 1. 2. Analiza și caracterizarea GC - MS a uleiului volatil

5. 1. 2. 1. Prelucrarea datelor

5. 2. Randamentul de extracție

5. 3. Caracterizarea chimică a uleiurilor volatile

5. 3. 1. *Lavandula angustifolia* - varietatea Codreanca

5. 3. 2. *Lavandula angustifolia* - varietatea Provence Blue

5. 3. 3. *Lavandula angustifolia* - varietatea Vera

5. 3. 4. *Lavandula angustifolia* - varietatea Sevtopolis

5. 4. Discuții

5. 5. Concluzii preliminare

CAPITOLUL 6. EVALUAREA EXPRESIEI UNOR GENE IMPLICATE ÎN SINTEZA ULEIURILOR VOLATILE LA VARIETĂȚI ALE SPECIEI *LAVANDULA ANGUSTIFOLIA* MILL.

6. 1. Materialul vegetal și izolarea ARN

6. 2. Genele de interes

6. 2. 1. Genele și enzimele căii citoplasmatică MVA

6. 2. 2. Genele și enzimele căii plastidiale MEP/DXP

6. 2. 3. Sintazele monoterpene și sesquiterpenice

6. 3. Tehnica și analiza RT-qPCR

6. 3. 1. Cuantificarea cantitativă a ARN

6. 3. 2. Realizarea standardelor

6. 3. 2. 1. Reacția de revers-transcripție

- 6. 3. 2. 2. Amplificarea PCR a genelor de interes
- 6. 3. 2. 3. Validarea ampliconilor prin electroforeză în gel de agaroză
- 6. 3. 2. 4. Purificarea produșilor PCR
- 6. 3. 3. Evaluarea expresiei genice prin metoda RT – qPCR
- 6. 4. Interpretarea și analiza datelor
- 6. 5. Rezultate
 - 6. 5. 1. Cuantificarea și normalizarea probelor ARN
 - 6. 5. 2. Analiza produșilor PCR în urma amplificării
 - 6. 5. 3. Realizarea standardelor
 - 6. 5. 4. Cuantificarea expresiei genelor implicate în biosinteza uleiului volatil
 - 6. 5. 4. 1. *Lavandula angustifolia* - varietatea Codreanca
 - 6. 5. 4. 2. *Lavandula angustifolia* - varietatea Provence Blue
 - 6. 5. 4. 3. *Lavandula angustifolia* - varietatea Vera
 - 6. 5. 4. 4. *Lavandula angustifolia* - varietatea Sevtopolis
- 6. 6. Discuții
 - 6. 6. 1. Gena HMGR (3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductaza)
 - 6. 6. 2. Gena DXS (1-deoxi-D-xiluloză-5-fosfat sintaza)
 - 6. 6. 3. Gena LIMS (limonen sintaza)
 - 6. 6. 4. Gena LINS (linalool sintaza)
 - 6. 6. 5. Gena BDH (borneol dehidrogenaza)
- 6. 7. Concluzii preliminare

CAPITOLUL 7. DISCUȚII GENERALE

CONCLUZII GENERALE

BIBLIOGRAFIE

ANEXE

LISTA DE ABREVIERI

AACT – acetoacetil-CoA tiolază;
ADN – acid dezoxiribonucleic;
ARN – acid ribonucleic;
BDH – borneol dehidrogenaza;
BERS – α -bergamoten sintaza;
CADS – cadinol sintază;
CARS – β -cariofilen sintaza;
CINS – 1,8 - cineol sintaza;
CoA – acetil-coenzima A;
CPS – 9-epi-cariofilen sintaza;
DMAPP – dimetilalil pirofosfat;
DXP – 1-deoxi-D-xiluloză-5-fosfat;
DXS – 1-deoxi-D-xiluloză-5-fosfat sintaza;
FPP – farnesil pirofosfat;
FPPS – FPP sintaza;
G3P – gliceraldehidă 3-fosfat;
GC-MS – gaz-cromatografie cu spectrometrie în masa;
GERDS – germacren D sintaza;
GPP – geranil pirofosfat;
GPPS – GPP sintază;
HMBPP – 1-hidroxi-2-metil-2 (E) -butenil 4-pirofosfat;
HMG-CoA – 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA;
HMGR – 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductaza;
HMGS – 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA sintaza;
IPI – izopentenil pirofosfat izomeraza;
IPP – izopentenil pirofosfat;
IR – indice de retenție;
ISO – Organizația Internațională pentru Standardizare;
K – potasiu;
LIMS – limonen sintaza;
LINS – linalool sintaza;
LPP – lavandulil pirofosfat;
LPPS – LPP sintaza;
MEP – 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfat;
MEV – mevalonat;
MVA – acid mevalonic;
MVD – mevalonat pirofosfat decarboxilază;
MVPP – mevalonat-5-pirofosfat;
NADPH – nicotinamid adenin dinucleotid fosfat;

P – fosfor;

pb – perechi de baze;

PCR – reacția de polimerizare în lanț;

PHLS – β -felandren sintaza;

RT – qPCR – reacția de polimerizare în lanț cantitativă în timp real;

s. u. – substanță uscată;

SEM – microscopie electronică de baleiaj;

Variante de lucru

M – martor;

v1 – plante udate cu H₂O;

v2 – plante udate cu soluție nutritivă Hoagland standard;

v3 – plante udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adăiere de K;

v4 – plante udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adăiere de P;

Cod – varietatea Codreanca;

PB – varietatea Provence Blue;

Sev – varietatea Sevtopolis;

Vera – varietatea Vera;

var. – varietate;

PARTEA I: CONSIDERAȚII TEORETICE

INTRODUCERE

Încă din timpuri străvechi omul a preluat din natură diferite specii de plante spontane pe care le-a sădit sau le-a însămânțat în areale special destinate cultivării lor. Astfel au luat naștere plantele de cultură care au fost ameliorate încă din preistorie în scopul creșterii producției, astfel încât au rezultat varietăți și chiar specii noi.

O bună cunoaștere a constituenților biochimici ai plantelor oferă informații importante în efortul de descoperire de noi resurse fitochimice complexe, ce reprezintă baza de sinteză a unor compuși valoroși pentru terapia naturistă și nu numai.

Cultivarea plantelor aromatice și medicinale și transformarea lor industrială este o alternativă ce prezintă la ora actuală real interes pentru multe regiuni din țara noastră, activități care pot ajuta la rezolvarea anumitor probleme economice, sociale și de mediu la nivel zonal și regional, având în vedere că asistăm în ultimii ani atât în România, cât și în restul Europei, la o accentuare a interesului pentru studiul plantelor aromatice și medicinale.

Din punct de vedere economic speciile de lavandă se pretează pentru cultivare în condițiile climatice din România, fiind introduse astăzi pe lista plantelor de interes agricol; la ora actuală acordarea de proiecte cu finanțare europeană destinate înființării și valorificării culturilor de lavandă a sporit interesul agricultorilor în acest sens, fapt concretizat printr-o creștere exponențială a numărului de culturi de lavandă organizate pe teritoriul țării.

În contextul celor enunțate, tema abordată în prezenta teză de doctorat face parte, prin obiectivele propuse și prin metodologia de realizare a acestora dintr-un domeniu de cercetare fundamental aplicativă, cercetare bazată pe o abordare interdisciplinară, ce a urmărit identificarea și investigarea interrelațiilor ce se pot stabili între condițiile de cultivare, modificările morfo-anatomice, expresia genică a anumitor gene implicate în biosinteza uleiului volatil și compoziția acestuia la unii taxoni ai genului *Lavandula* L.

CAPITOLUL 1. BIOLOGIA GENULUI *LAVANDULA* L.

Încadrare sistematică

Speciile genului *Lavandula* au fost folosite ca plante medicinale și aromatice încă din Antichitate; discutând modalitatea de apariție a denumirii populare de lavandă literatura de specialitate consideră că originea cuvântului „lavandula” vine de la latinescul „lavare”= a spăla, datorită faptului că în Grecia antică, Persia și Imperiul Roman populația folosea această plantă pentru a-și parfuma băile (Lis-Balchin, 2002; Basch și colab., 2004; Szekely-Varga și Cantor, 2019).

Studii recente despre taxonomia genului *Lavandula* împart genul în 8 secțiuni și 36 de specii distincte morfologic (Upson, 2002; Upson și Andrews, 2004; Passalacqua și colab., 2017).

Conform ITIS (Sistemul de Informații pentru Integrare Taxonomică) (ITIS TSN 500370) și CABI (Centrul Internațional pentru Agricultură și Bioștiință), genul *Lavandula* L. a prezentat următoarea poziționare sistematică:

REGN: *PLANTAE*

ÎNCRENGĂTURĂ: SPERMATOPHYTA

SUBÎNCRENGĂTURĂ: ANGIOSPERMAE

CLASĂ: DICOTYLEDONAE

SUBCLASĂ: ASTERIDAE

ORDIN: LAMIALES

FAMILIE: LAMIACEAE (LABIATAE)

TRIB: LAVANDULEAE

GEN: LAVANDULA

Reprezentanți ai genului *Lavandula* L.

Genul *Lavandula* este reprezentat prin patru specii principale:

- *Lavandula x intermedia* Emeric: lavandin, lavandă olandeză

Este un hibrid natural, ce are semințe sterile, rezultat din încrucișarea speciilor *Lavandula angustifolia* Mill. și *Lavandula latifolia* L. Precum lavanda și acest hibrid are numeroase soiuri, unul dintre cele mai populare la noi în țară fiind Grosso (Lis-Balchin, 2002; Upson și Andrews, 2004).

- *Lavandula latifolia* Medik.: lavandă portugheză, lavandă cu frunza lată, lavandă spic

Este un arbust lemnos cu formă globulară, ce atinge o înălțime cuprinsă între 40 – 100 cm. Frunzele sunt opuse, cu forme ce variază de la lanceolate până la spatulate, cu margine revolută, de culoare gri-verde până la gri-argintiu, cu indument dens. Inflorescențele sunt pedunculat (de obicei ramificate o dată, dând un cap de floare cu 3 ramuri) (Săvulescu, 1952; Zuzarte, 2013).

- *Lavandula stoechas* L.: lavandă franceză, lavandă spaniolă

Speciile de lavandă care aparțin acestei secțiuni sunt plante perene ce cresc până la 1 m înălțime. Acestea sunt în mare parte originare din regiunea mediteraneană, în timp ce unele vegetează în Africa de Nord, Algeria, Asia și insulele Azore. Frunzele sunt liniare, lanceolate, oblanceolate sau eliptice, cu margini întregi, iar culoarea lor variază de la verde până la gri-verde. Bracteele sterile sunt mari și asemănătoare petalelor, de culoare variabilă (Mason, 2014).

- *Lavandula angustifolia* Mill. (Figura 1. 1.): lavandă, levănțică, lavandă englezească

„Este un subarbust peren cu rădăcină lignificată, groasă până la 2 - 3 cm. În primul an după plantare planta dezvoltă rădăcina principală, ce poate ajunge până la 1,20 m. În cel de-al doilea an de vegetație aceasta își dezvoltă sistemul radicular secundar în plan orizontal, ca proiecție a tufei aeriene în sol. Profunzimea și bogăția sistemului radicular conferă lavandei rezistență la secetă. Tulpina, ramificată puternic la bază, formează o tufă globuloasă, cu o înălțime cuprinsă între 30 - 70 cm sau mai mult. Ramificațiile care poartă inflorescențele sunt lungi de 25 - 35 cm și prezintă frunze numai în partea inferioară. Frunzele sunt opuse, linear-lanceolate, sesile, acute, pe margini ciliate; cele inferioare cenușii, de 1 - 2 cm lungime și 1,5 - 2 mm lățime, pe ambele fețe cu indumentum alcătuit din peri ramificați, stelați; cele superioare cenușii - verzi, de 2 - 3,5 cm lungime și 3 - 6 mm lățime, mai puțin păroase. Frunzele lavandei nu cad toamna la sfârșitul vegetației”.

Conform acelorași autori, „Florile, de tipul labiatelor, cu miros aromatic datorită glandelor oleifere, sunt grupate într-o inflorescență spiciformă, cu lungimea de 3 - 8 cm, compusă de fapt din 4 - 5 până la 12 pseudovercile suprapuse. Fructele sunt reprezentate de 4 nucule, situate la baza caliciului persistent, alungit

ovate, cu suprafața brună sau cenușie, netedă și lucioasă. Lavanda înflorește în lunile iunie – iulie” (Săvulescu, 1952; Luncean și colab., 2018; Goncariuc și colab., 2019).



Figura 1. 1. *Lavandula angustifolia* - (Köhler, 1887) (<https://www.kalliergeia.com/en/english-lavender-lavandula-angustifolia-botanical-classification-and-varieties/>)

CAPITOLUL 2. ISTORICUL CERCETĂRILOR

În prezent, speciile genului *Lavandula* sunt intens studiate datorită conținutului lor în uleiuri volatile și valorii socio - economice pentru industria medicală (Shahdadi și colab., 2017; Firoozeei și colab., 2021), alimentară, cosmetică, parfumerie și aromaterapie (Cavanagh și Wilkinson, 2002; Zuzarte și colab., 2010; Woronuk și colab., 2011; Hassiotis și colab., 2014; Prusinowska și Śmigielski, 2014; Lesage-Meessen și colab., 2015; Salehi și colab., 2018). Ca produse utilizate în industrii pot fi enumerate florile (*Lavandulae flos*), reprezentate de inflorescențele de lavandă, precum și uleiul volatil (*Lavandulae atheroleum*), definit ca uleiul volatil obținut prin hidrodistilare cu abur din inflorescențe (Verma și colab., 2010; Saadatian și colab., 2013; Farmacopeea Europeană 10.0., 2019).

Trei specii ale genului *Lavandula* sunt cultivate în principal pentru producția comercială a uleiurilor volatile, și anume: *Lavandula angustifolia* Mill. sin. *L. officinalis* Chaix (lavandă adevărată sau lavandă engleză), *Lavandula x intermedia* Emeric sin. *L. hybrida* L. (lavandin) și *Lavandula latifolia* Medicus (Werker, 1993; Lis-Balchin, 2002; MacTavish și Harris, 2002; Prins și colab., 2010; Nimet și Baydar, 2013; Lesage-Meessen și colab., 2015; Aprotosoiaie și colab., 2017; el Hamdaoui și colab., 2018; Mill și colab., 2019).

Standardele de calitate privind profilul chimic al uleiurilor volatile au fost stabilite de către Organizația Internațională de Standardizare (ISO), iar pentru uleiul volatil de *Lavandula angustifolia*, acesta este ISO 3515:

2002; de asemenea, calitatea farmaceutică a uleiului volatil de lavandă este strict reglementată de farmacopee (Tabel 2. 1.).

Tabel 2. 1. Standardele ISO și ale Farmacopeei Europene pentru uleiurile volatile produse de *Lavandula angustifolia* (Farmacopeea Europeană 10.0, 2019)

Compus (%)	ISO 3515:2002 <i>L. angustifolia</i>	Farmacopeia Europeană <i>L. angustifolia</i>
Linalool	25 – 38	20 – 45
Acetat de linalil	25 – 45	25 – 47
1,8 – Cineol (eucaliptol)	1 – 2	< 2.5
Camfor	0.5 – 1	< 1.2
Limonen	< 1	< 1
β - ocimen	2.5 – 6	–
Terpinen - 4 - ol	2 – 6	0.1 – 8
Acetat de lavandulil	3.4 – 6.2	> 0.2
Lavandulol	> 0.1	> 0.1
α - Terpeneol	< 2	< 2
3 - Octanona	–	0.1 - 5

Compoziția chimică a uleiurilor volatile

Dintre cele 48 de specii ale genului *Lavandula*, doar 17 dintre acestea au fost studiate în ceea ce privește compoziția chimică a uleiurilor lor volatile. Dintre acestea, cea mai cunoscută și studiată specie importantă pentru industria farmaceutică, medicală și cosmetică și recunoscută pentru producția de ulei volatil este *Lavandula angustifolia* (Yukes și Balick, 2010; Dušková și colab., 2016; Aprotosoiaie și colab., 2017; Sönmez și colab., 2018).

Din punct de vedere cantitativ, conform farmacopeei europene, componentele principale care imprimă și mirosul de bază al uleiului de lavandă sunt linaloolul (20 - 45%) și acetatul de linalil (25 – 47 %). Esteri responsabili de aroma uleiului, regăsiți într-o proporție mai mică sunt eucaliptolul (maxim 2,5%) și camforul (maxim 1,2 %), acesta din urmă fiind considerat ca diminuând calitatea uleiului. La rândul lor, lavandulolul (minim 0,1 %) și acetatul de lavandulil (minim 0,2 %) sunt compușii caracteristici ai uleiului de lavandă (Ceaușescu și colab., 1988; Lis-Balchin, 2002; Herraiz-Peñalver și colab., 2013; Saadatian și colab., 2013; Hancianu și colab., 2014).

PARTEA A II-A: CONTRIBUȚII PERSONALE

SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRILOR

Scopul cercetărilor care fac subiectul prezentei teze îl reprezintă observarea, evidențierea și discutarea unor caracteristici histo-anatomice și micromorfologice ale organelor vegetative (frunze, tulpini și rădăcini), precum și a unor modificări de ordin funcțional (randament de extracție, spectru de compoziție, precum și expresia genelor coordonatoare a procesului de biosinteză a uleiurilor volatile) la taxoni ai genului *Lavandula* L. din România producători de uleiuri volatile, cultivați în condiții experimentale specifice.

În vederea îndeplinirii scopului propus, au fost stabilite și realizate următoarele obiective:

Obiectivul 1. Evaluarea comparativă la nivel histo-anatomic și micromorfologic a organelor vegetative ale unor taxoni ai genului *Lavandula* L. producători de uleiuri volatile cultivați în România.

Obiectivul 2. Studiarea modificărilor histo-anatomice și micromorfologice induse de aplicarea soluției nutritive Hoagland, ca supliment de cultivare, organelor vegetative (frunze și tulpini, funcție de tipul de investigație realizat) la taxonii de lavandă avuți în atenție.

Obiectivul 3. Studiarea efectelor induse de aplicarea soluției nutritive Hoagland, ca supliment de cultivare, randamentului de extracție și compoziției biochimice a uleiurilor volatile produse de organele vegetative și generative (tije florale) la taxonii de lavandă studiați.

Obiectivul 4. Cuantificarea expresiei genelor implicate în sinteza uleiurilor volatile la taxonii de lavandă studiați.

Obiectivul 5. Corelarea expresiei genelor implicate în sinteza uleiurilor volatile cu variantele de tratament aplicate la taxonii de lavandă analizați.

CAPITOLUL 3. ANALIZA HISTO – ANATOMICĂ ȘI MICROMORFOLOGICĂ COMPARATIVĂ A ORGANELOR VEGETATIVE ALE UNOR TAXONI AI GENULUI *LAVANDULA* L. CULTIVAȚI ÎN ROMÂNIA

Speciile aparținând familiei Lamiaceae prezintă diverse tipuri de peri protectori și secretori, a căror morfologie, distribuție și densitate constituie caracteristici taxonomice importante. Speciile genului *Lavandula* au fost supuse unui număr semnificativ de studii bazate pe diverse caracteristici, cum ar fi anatomia organelor vegetative și generative (Toma și Niță, 1982; Huang și colab., 2005; Nikolakaki și Christodoulakis, 2006; Robu și colab., 2011; do Rocio Duarte și Carvalho de Souza, 2014; Lungu și colab., 2014; Riva și colab., 2014; Brailko și colab., 2017; Fakhridinova și colab., 2020; Tanase și colab., 2020) și caracteristicile micromorfologice ale perilor protectori și secretori (Huang și colab., 2005, 2008; Zuzarte și colab., 2010; Giuliani și colab., 2020).

Material biologic

Analizele au fost realizate pe varietăți ale speciilor *Lavandula x intermedia* Emeric și *Lavandula angustifolia* Mill. (Tabel 3. 1.).

Tabel 3. 1. Speciile și varietățile de lavandă luate în studiu

Specia	Varietate	Număr inventar
<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	Ellagance Pink	207011
	Ellagance Snow	207008
	Ellagance Purple	207007
	Munstead	207010
	Vicenza Blue	207006
<i>Lavandula intermedia</i> Emeric.	<i>x</i> Grosso	207005

Investigații histo - anatomice

Metoda și tehnica de lucru pentru realizarea secțiunilor transversale prin organele vegetative ale plantelor

Prepararea secțiunilor histologice s-a realizat respectând un protocol ce cuprinde următorii pași:

- Fixarea și conservarea materialului biologic:
- Secționarea probelor:
- Colorarea preparatelor:
- Fotografierea preparatelor:

Rezultate și discuții

Tulpina

Conturul secțiunii transversale este pătratic, modificat de patru aripi relativ proeminente (contur caracteristic plantelor din familia Lamiaceae). La nivelul epidermei se observă prezența a numeroși peri protectori pluricelulari, masivi, stelat ramificați, morți la maturitate, care conferă tulpinii și frunzelor un aspect albicios.

- *Lavandula angustifolia* Ellagance Pink (Figura 3. 1.)

Conturul secțiunii transversale este pătratic, cu muchiile ușor rotunjite la colțuri. Epiderma este reprezentată în exclusivitate de celule transformate în peri protectori uni- și pluricelulari ramificați și peri secretori uni- și pluricelulari. Scoarța prezintă la colțurile tulpinii insule de colenchim angular, între care se află două, maxim trei straturi de celule parenchimatice asimilatoare.

- *Lavandula angustifolia* Ellagance Purple (Figura 3. 2.)

Structura tulpinii este asemănătoare cu cea a varietăților Ellagance Pink și Ellagance Snow, prin faptul că secțiunea prezintă un contur pătratic, cu muchiile rotunjite la colțuri, măduva are formă romboidală, este persistentă, constituită din celule parenchimatice, ușor rotunjite, ce lasă mici meaturi între ele (Figura 3. 7. - A).

Epiderma se dezorganizează și se exfoliază și o dată cu ea mare parte din scoarță și liberul secundar se dezorganizează.

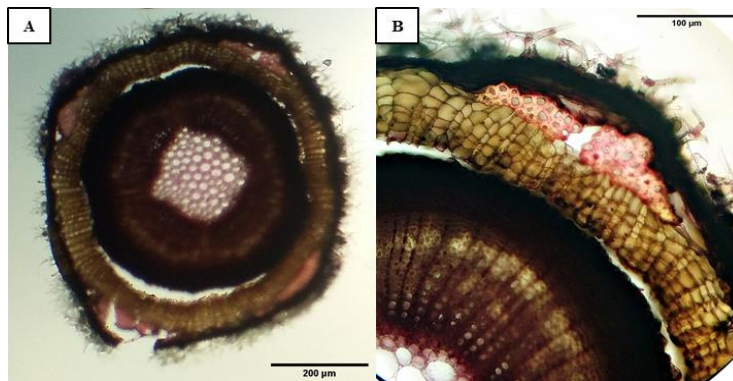


Figura 3. 1. Secțiuni transversale prin tulpina de *Lavandula angustifolia* Ellagance Pink (A – vedere generală; B - exfolierea suberului, colenchimului angular și a epidermei) (original)

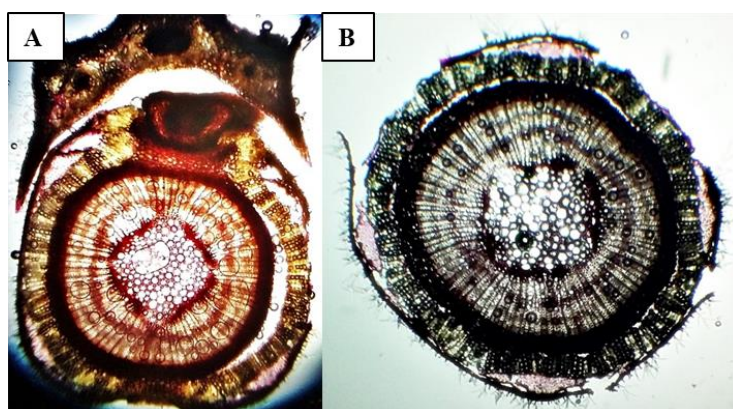


Figura 3. 2. Secțiuni transversale prin tulpina de *Lavandula angustifolia* Ellagance Purple (A, B – privire de ansamblu, se observă exfolierea epidermei și a scoarței) (original)

Varietățile de *Lavandula angustifolia* Munstead (Figura 3. 3.) și Vicenza Blue (Figura 3. 4.) prezintă o caracteristică asemănătoare neîntâlnită la soiurile din grupul `Ellagance`: colenchim angular aproape absent în coastele tulpinii, în schimb prezent sub forma unor insule bine conturate (7 - 10 straturi) la periferia liberului (primar și secundar).

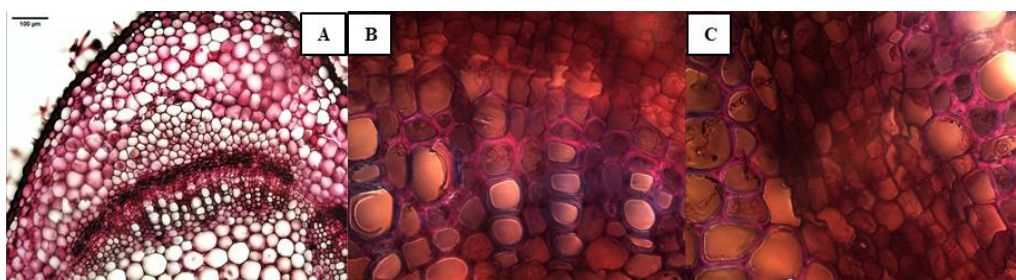


Figura 3. 3. Secțiune prin tulpina de *Lavandula angustifolia* Munstead (A – detaliu; colenchim angular în coaste; B – detaliu cu țesutul conducător lemnos; C – detaliu cu vasele conducătoare liberiene) (original)

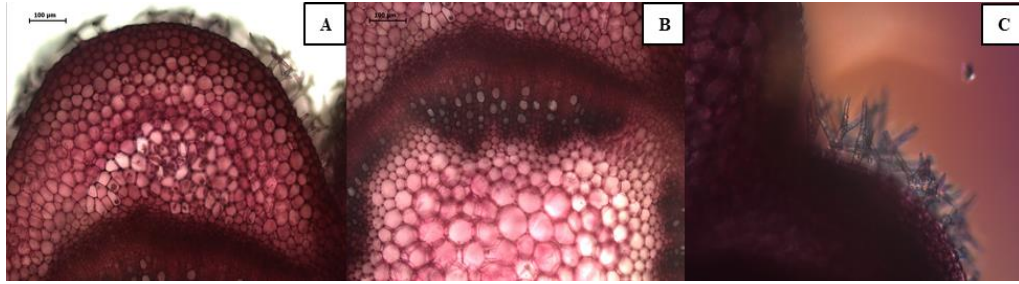


Figura 3. 4. Secțiune prin tulpina de *Lavandula angustifolia* Vicenza Blue (A – coasta cu peri protectori și colenchim angular; B – fascicul libero-lemnoso; C – peri protectori) (original)

➤ *Lavandula x intermedia* Grosso (Figura 3. 5.)

Conturul secțiunii transversale este pătratic, cu cele patru coaste ușor proeminente așa cum este descris tiparul clasic pentru speciile din familia *Lamiaceae*.

În cilindrul central se pot distinge fascicule libero-lemnoase de tip colateral deschis, de dimensiuni diferite. Măduva păstrează oarecum conturul romboidal și este persistentă.



Figura 3. 5. Secțiune transversală prin tulpina de *Lavandula x intermedia* Grosso (A – prezentare generală; B – coastă cu colenchim angular; C – epiderma acoperită cu peri secretori și peri protectori) (original)

Perii secretori și protectori

Pe suprafața tulpinii se găsesc peri secretori mai mult sau mai puțin lungi, cu glanda bi-, tetra- sau octocelulară (Figura 3. 6. – A, B, C, D).

Pe suprafața ambelor epiderme ale limbului foliar, se întâlnesc peri secretori, cu pedicel scurt și cu glandă uni-, bi-, tetra- sau octocelulară. Față de perii protectori care sunt mai deși pe epiderma superioară, perii secretori, sunt mai abundenți pe cea inferioară (Figura 3. 6. - E, F).

Pe suprafața tulpinii se află numeroși peri protectori, mult mai frecvenți în valecule și de două categorii: uni- sau bicelulari, dar simpli, scurți și ascuțiți la vârf și pluricelulari, mai lungi, întotdeauna ramificați (Figura 3. 7.), rezultate susținute de date experimentale raportate în literatura de specialitate (do Rocio Duarte și Carvalho de Souza, 2014; Giuliani și colab., 2020).

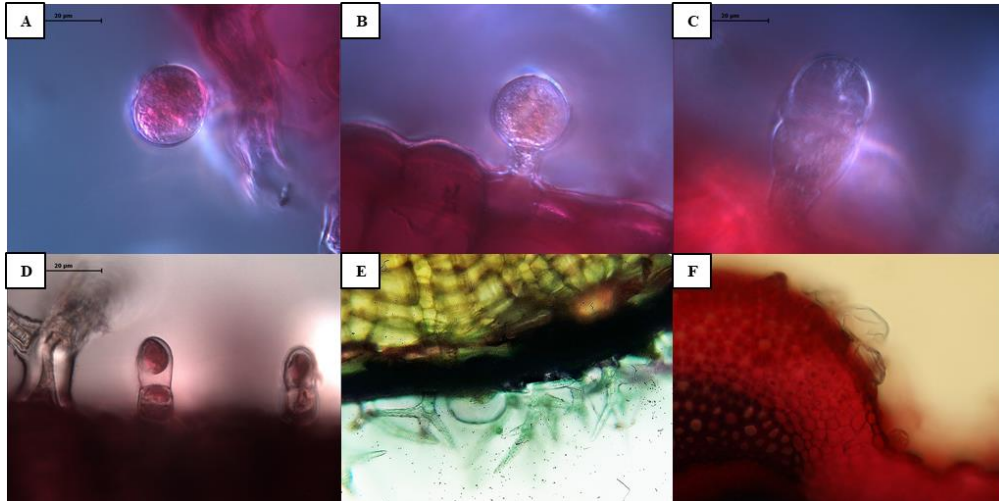


Figura 3. 6. Microfotografiile la microscopul optic cu tipuri de peri secretori (A, B – peri secretori capitați cu glandă secretoare unicelulară; C, D - peri secretori capitați cu glandă secretoare bicelulară; E – păr secretor peltat; F – cuticula perilor secretori peltați) (original)

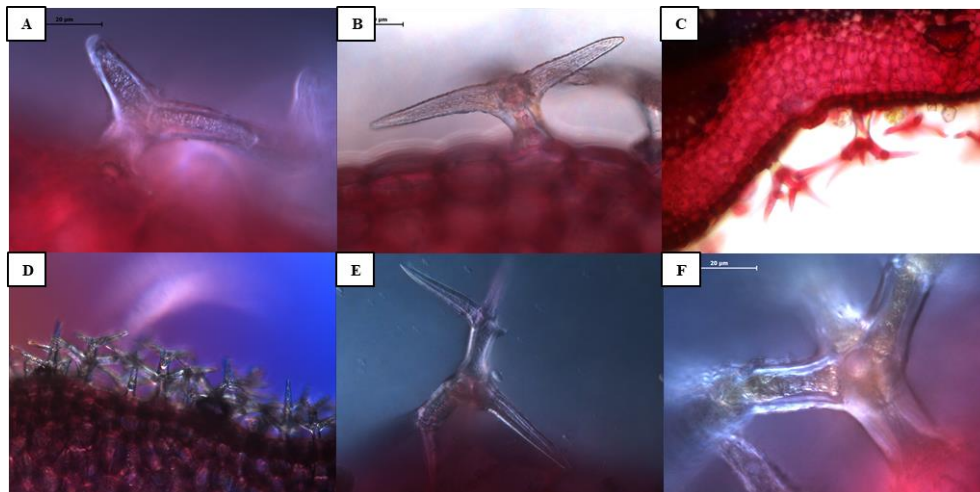


Figura 3. 7. Fotografii la microscopul optic cu tipuri de peri protectori (A, B – peri protectori bicelulari; C, D, E, F – peri protectori puternic ramificați) (original)

Aspecte micromorfologice

Metoda și tehnica de lucru pentru microscopia electronică de baleiaj (SEM)

Materialul vegetal (proveniență descrisă anterior la subcapitolul **3. 1. Material biologic**) folosit pentru acest studiu a constat din frunze proaspete, recoltate de la taxonii genului *Lavandula* luați în studiu, material preparat conform tehnicilor SEM adaptate după tehnicile standard descrise de Bozzola și colab., 1999.

Probele au fost observate și fotografiate la microscopul electronic de baleiaj Tescan VEGA II SBH.

Etape de lucru:

1. Selecția materialului vegetal.
2. Uscarea probelor la temperatura camerei.
3. Montarea probelor pe suporturi de aluminiu.
4. Metalizarea probelor utilizând metalizorul EMS 550X Sputter Coater.

5. Identificarea zonei de interes.

6. Efectuarea fotografiilor la microscopul electronic de baleiaj (SEM) Tescan Vega II SBH – 30kV.

7. Analiza micrografiilor obținute (.tiff) cu ajutorul programului ImageJ.

Măsurarea suprafețelor frunzelor și numărarea formațiunilor secretoare și protectoare au fost realizate pe imagini digitale și au fost analizate cu ajutorul software-ului ImageJ, folosind plugin-ul Cell Counter (Abramoff și colab., 2004).

Rezultate și discuții

În urma analizei suprafețelor limbului foliar la microscopul electronic de baleiaj (SEM) s-au observat aspecte privind densitatea și structura perilor protectori și secretori.

Perii secretori capitați și peltați (Figura 3. 8.) identificați pe suprafața frunzelor varietăților studiate au prezentat caracteristici similare cu perii secretori raportați pentru alte specii ale genului *Lavandula* (Martínez-Natarén și colab., 2011; do Rocio Duarte și Carvalho de Souza, 2014; Brailko și colab., 2017).

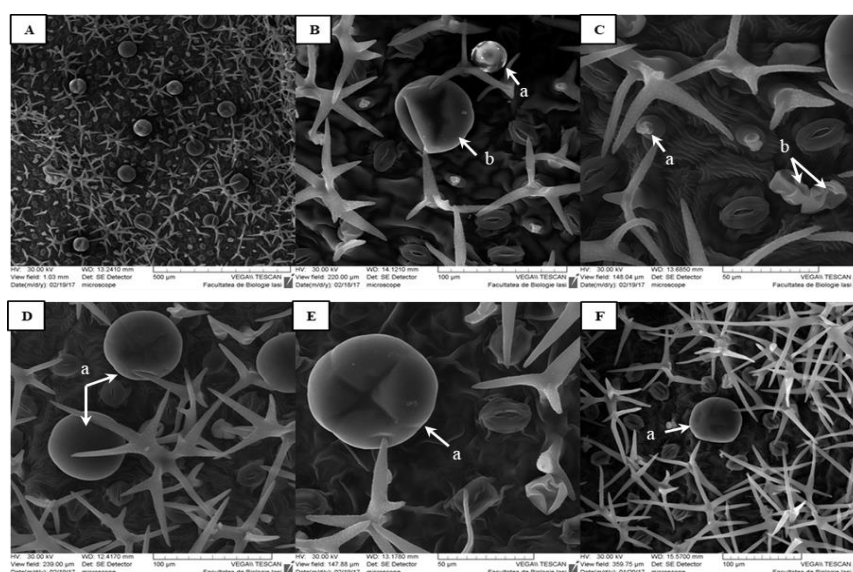


Figura 3. 8. Fotografii la microscopul electronic cu tipuri de peri secretori (A – *L. angustifolia* Munstead, epiderma inferioară; B - *Lavandula x intermedia* Grosso, a - păr secretor capitat bicelular; b – păr secretor peltat cu glandă tetracelulară; C – *L. angustifolia* Munstead, a, b - peri glandulari unicelulari și bicelulari în faza post-secretore; D – *L. angustifolia* Ellagance Purple, a - peri secretori peltați cu glandă tetracelulară; E – *L. angustifolia* Munstead, a - păr secretor peltat cu glandă tetracelulară; F – *L. angustifolia* Vicenza Blue, a - tricom peltat cu opt celule secretoare) (original)

Cele mai ridicate valori privind densitatea perilor protectori au fost întâlnite la varietatea Vicenza Blue a speciei *L. angustifolia* pe ambele suprafețe ale epidermei, urmat în ordine descrescătoare de *Lavandula x intermedia* Grosso, *L. angustifolia* Ellagance Snow, Munstead (cu valori apropiate), Ellagance Purple și Ellagance Pink, la care numărul perilor protectori a fost mai mare pe epiderma superioară, decât pe cea inferioară.

Pe baza morfologiei și a numărului de celule, perii protectori au fost împărțiți în patru tipuri: unicelulari simpli sau multicelulari, unicelulari ramificați sau multicelulari (Figura 3. 9.).

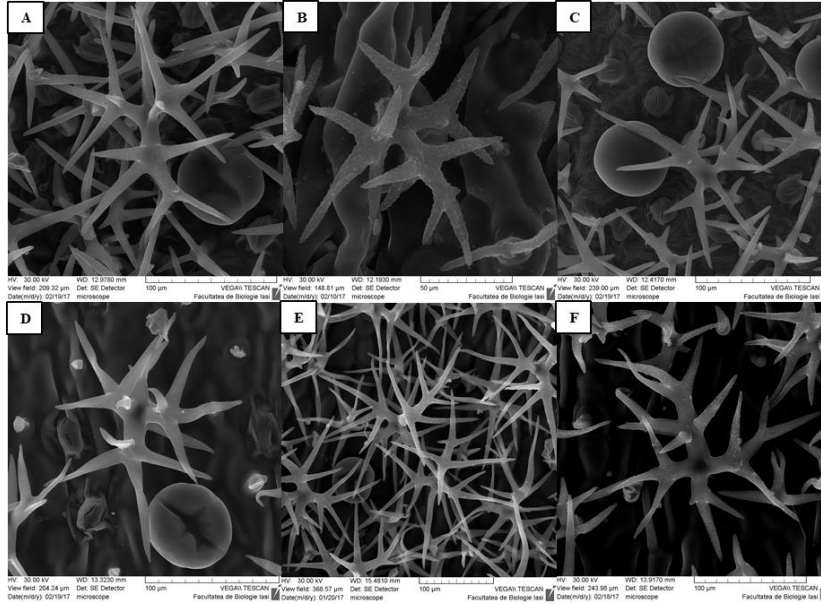


Figura 3. 9. Micrografii la microscopul electronic de baleiaj cu tipuri de peri protectori de pe suprafața frunzei (A – *L. angustifolia* Ellagance Snow; B – *L. angustifolia* Ellagance Pink; C – *L. angustifolia* Ellagance Purple; D – *L. angustifolia* Munstead; E – *L. angustifolia* Vicenza Blue; F – *L. x intermedia* Grosso) (original)

Cea mai mare densitate a perilor secretori a fost observată pentru soiul Munstead, pe ambele suprafețe ale frunzelor (Tabel 3. 2.), această caracteristică fiind corelată cu importanța economică a respectivului cultivar, cunoscut datorită capacității mari de producție a uleiului volatil, folosit deseori în diverse industrii (Adaszyńska-Skwirzyńska și colab., 2013). De asemenea, la acest soi au fost observați, pe suprafața ambelor epiderme, numeroși peri protectori uni-, bi- sau multicelulari, slab ramificați și de dimensiuni reduse față de cei identificați la restul taxonilor analizați.

Tabel 3. 2. Densitatea/mm² perilor secretori și protectori la taxonii genului *Lavandula*: *L. angustifolia* Ellagance Pink, *L. angustifolia* Ellagance Purple, *L. angustifolia* Ellagance Snow, *L. angustifolia* Munstead, *L. angustifolia* Vicenza Blue, *Lavandula x intermedia* Grosso

Specie/varietate		Epiderma superioară				Epiderma inferioară			
		Peri secretori			Peri protectori	Peri secretori			Peri protectori
		Capitați	Peltați	Total		Capitați	Peltați	Total	
<i>Lavandula angustifolia</i> Ellagance Pink	Medie	7.20	3.81	11.01	75.38	22.49	11.16	33.65	50.56
	Deviația standard	2.98	0.61	2.37	3.75	3.24	3.26	0.03	4.84
<i>Lavandula angustifolia</i> Ellagance Purple	Medie	7.25	6.04	13.30	85.02	24.77	30.59	55.36	104.36
	Deviația standard	1.14	0.57	1.71	8.57	3.57	3.60	7.17	2.85
<i>Lavandula angustifolia</i> Ellagance Snow	Medie	13.18	3.07	16.25	113.76	35.28	13.75	49.03	127.29
	Deviația standard	3.75	0.62	3.13	10.74	7.52	3.56	3.96	8.12
<i>Lavandula angustifolia</i> Munstead	Medie	64.34	7.84	72.18	95.80	73.60	15.26	88.86	127.66
	Deviația standard	9.57	5.05	11.58	13.67	2.66	3.13	0.47	15.81
	Medie	36.38	10.91	47.30	185.52	60.37	11.30	71.67	200.21

<i>Lavandula angustifolia</i> Vicenza Blue	Deviația standard	10.31	5.15	15.47	5.27	9.79	5.17	14.96	2.36
<i>Lavandula x intermedia</i> Grosso	Medie	13.99	0.00	13.99	98.00	45.04	8.68	53.72	143.74
	Deviația standard	0.08	0.00	0.08	1.78	7.18	1.02	6.16	8.24

Concluzii preliminare

În urma analizei histo-anatomice asupra organelor vegetative, consultării literaturii de specialitate și a observațiilor microscopice se pot afirma următoarele:

- la nivelul rădăcinii nu există diferențe semnificative din punct de vedere structural, diferențele ce apar sunt de natură cantitativă și se referă la celulele de parenchim din corpul lemnos central;
- la nivelul tulpinii, la varietățile din grupul Ellagance epiderma se dezorganizează și se exfoliază, conturul secțiunii devenind circular, dispărând elementul de diagnoză specific lamiaceelor - conturul pătratic; la restul soiurilor se păstrează conturul pătratic, cu patru coaste proeminente; o diferență cantitativă este întâlnită la soiurile Munstead și Vicenza Blue, la care colenchimul angular este prezent sub forma unor insule bine conturate;
- toate varietățile prezintă numeroși peri protectori, ramificați arborescent și numeroși peri secretori cu glanda bi-, tetra- sau octocelulară pe suprafața tulpinii, caractere specifice genului *Lavandula*.

Suprafețele epidermice ale frunzelor speciilor și soiurilor studiate prezintă un indumentum format din peri secretori și protectori. Densitatea perilor variază interspecific, cât și intraspecific, fiind observate două tipuri de peri secretori: capitați și peltați. Perii secretori peltați sunt constituiți dintr-un cap masiv format din patru până la opt celule secretoare; aceștia sunt absenți pentru epiderma superioară a speciei *Lavandula x intermedia* Grosso. Perii secretori capitați sunt tipul dominant de peri glandulari, mult mai abundenți pe epiderma inferioară a tuturor taxonilor analizați.

Perii protectori sunt formațiunile dominante pe suprafața ambelor epiderme pentru toate speciile și varietățile analizate, mult mai abundenți pe suprafața epidermei inferioare. Aceștia au fost împărțiți în patru tipuri: unicelulari simpli sau multiceulari, unicelulari ramificați sau multiceulari, cu densitate mai mare decât perii secretori pentru toți taxonii analizați.

CAPITOLUL 4. MODIFICĂRI HISTO-ANATOMICE ȘI MICROMORFOLOGICE COMPARATIVE ALE ORGANELOR VEGETATIVE LA PATRU VARIETĂȚI DE *LAVANDULA ANGUSTIFOLIA* MILL. SUPLIMENTATE CU TIPURI DIFERITE DE SOLUȚIE NUTRITIVĂ HOAGLAND

Speciile genului *Lavandula* au făcut obiectul unor experimente de cultivare (Economakis și colab., 2002; Chrysargyris și colab., 2016) și de utilizare a produselor rezultate din prelucrarea organelor lor vegetative și generative (Zhao și colab., 2015; Salehi și colab., 2018; Ciocarlan și colab., 2021; Mushtaq și colab., 2021), precum și de stabilire a unor metode de îmbunătățire a producției și de analiză a compoziției chimice a uleiului volatil obținut din acestea (Mulder-Krieger și colab., 1988; Lis-Balchin, 2002; Urwin și Mailer, 2008; Prins și colab., 2010; Zuzarte și colab., 2010; Hassanpouraghdam și colab., 2011; Woronuk și colab., 2011; Herraiz-

Peñalver și colab., 2013; Lesage-Meessen și colab., 2015; Tomescu și colab., 2015; Erland și Mahmoud, 2016; el Hamdaoui și colab., 2018; Segura și colab., 2019; Ciocarlan și colab., 2021).

În contextul celor prezentate, cercetările a căror rezultate sunt incluse în prezentul capitol vizează evaluarea comparativă la nivel histo-anatomic și micromorfologic a organelor vegetative aparținând la patru varietăți de *Lavandula angustifolia* Mill. cultivate în țara noastră în localități din județele Botoșani, Vrancea și Cluj, suplimentate pe parcursul ciclului lor vegetativ cu diferite tipuri de soluții nutritive Hoagland.

Materialul biologic și design-ul experimental

Materialul vegetal utilizat a fost furnizat de producători locali din localitățile Vorona, județul Botoșani (47°34'32"N 26°37'39"E), Satu Nou, județul Vrancea (45°53'22"N 27°5'53"E) și Sânpaul, județul Cluj (46°52'15"N 23°25'09"E). Acesta a constat din organe vegetative (tulpini și frunze) aparținând unor plante mature, aflate în perioada de înflorire, cultivate în culturi special organizate pentru producția de ulei, așa cum se observă în tabelul 4. 1.

Tabel 4. 1. Lista varietăților aparținând speciei *Lavandula angustifolia* Mill. analizate

Specia	Varietate	Descriere morfologică	Număr inventar
<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	Codreanca	Soi românesc de lavandă provenind din soiul englezesc Hidcote, aclimatizat de INCDA Fundulea, omologat în anul 1992. Prezintă plante de mărime medie, cu inflorescențe violet închis și cu un conținut ridicat de ulei volatil. Este considerat unul dintre cele mai bune soiuri pentru cultivarea în condițiile climatice ale României, fiind rezistent la temperaturi scăzute și la îngheț.	207002
	Provence Blue	Soi cu perioada de înflorire de la începutul și până la sfârșitul verii, cu inflorescențe cu flori violet și nuanțe albastre frumoase, intens parfumate.	207009
	Vera	Varietate de lavandă englezească cu inflorescențe de culoare albastru - violet închis și tufe compacte, cultivată comercial pentru producția de ulei volatil dulce parfumat.	207001
	Sevtopolis	Soi originar din Bulgaria, de mare interes comercial datorită conținutului ridicat în uleiuri volatile, cu o înălțime a tufei de 40 - 60 cm și o lățime de 50 - 60 cm, indivizii prezentând frunze lungi de culoare verde - gri și flori albastre.	207004

Experimentul a fost desfășurat într-un spațiu protejat (solar) și neprotejat (câmp), din dorința de a estima cu un grad ridicat de acuratețe influența adaosului de nutrienți în substratul de cultivare asupra producției de uleiuri volatile, parametru analizat atât din punct de vedere cantitativ, cât și calitativ.

Pentru atingerea obiectivelor propuse în acest experiment s-au utilizat patru varietăți ale speciei *Lavandula angustifolia* Mill. și, respectiv, patru variante experimentale (Figura 4. 1.).

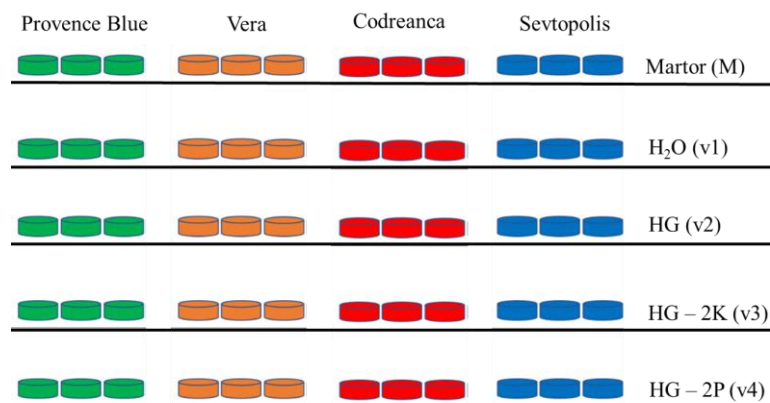


Figura 4. 1. Schema experimentală de cultivare (aprovizionare cu diferite tipuri de soluție Hoagland) a celor 4 varietăți de lavandă analizate

În afară de cele patru variante de lucru, plantele martor, de referință, (M) au fost cultivate în spațiu neprotejat (câmp) și udate cu apă.

Protocolul experimental de cultivare

În toamna anului 2017 au fost achiziționați aproximativ 100 de butași de lavandă aparținând mai multor varietăți de *L. angustifolia*, proveniți din culturi agricole special organizate în România.

În primăvara anului 2018, la sfârșitul lunii aprilie, butașii au fost dezgropați și transplantați în ghivece de producție, cu volumul de 3 L. Plantarea acestora a fost realizată într-un amestec de turbă cu perlit, în proporție de 3:1.

După plantare, ghivecele au fost transferate într-un solar situat în localitatea Vânători, județul Vrancea (45°43'22"N 27°15'16"E), pentru începerea experimentelor.

Astfel a fost realizat un model experimental ce cuprinde patru variante experimentale:

- udate cu H₂O (v1);
- udate cu soluție nutritivă Hoagland standard (HG) (v2);
- udate cu soluție nutritivă Hoagland conținând o cantitate dublă de K (HG - 2K) (v3);
- udate cu soluție nutritivă Hoagland conținând o cantitate dublă de P (HG - 2P) (v4).

Fiecare variantă experimentală a constat din câte 3 replicări.

Compoziția chimică a soluției nutritive

Prin prepararea acestei soluții s-a încercat obținerea unei soluții nutritive universale, care să asigure necesarul nutritiv pentru plantele cultivate în sere sau în sisteme hidroponice.

Compoziția chimică a soluțiilor stoc, cât și cantitatea necesară pregătirii unui litru de soluție nutritivă sunt prezentate în tabelele 4. 2. – 4. 4.

Tabel 4. 2. Compoziția standard a soluției nutritive Hoagland utilizată experimental (Hoagland și Arnon, 1950)

Componente	Soluția stoc [g/L]	Soluție stoc [ml/L]
KNO ₃	202	2.5
Ca(NO ₃) ₂ x 4H ₂ O	236	2.5
FeEDTA	15	1.5
MgSO ₄ x 7H ₂ O	493	1
NH ₄ NO ₃	80	1
KH ₂ PO ₄	136	0.5

Microelemente		
H ₃ BO ₃	2.86	0.5
MnCl ₂ x 4H ₂ O	1.81	0.5
ZnSO ₄ x 7H ₂ O	0.22	0.5
CuSO ₄ x 5 H ₂ O	0.051	0.5
H ₃ MoO ₄ x H ₂ O	0.09	0.5

Tabel 4. 3. Compoziția soluției nutritive Hoagland suplimentată (adiționată) cu K

Componente	Soluția stoc [g/L]	Soluție stoc [ml/L]
KNO ₃	202	5
Ca(NO ₃) ₂ x 4H ₂ O	236	2.5
FeEDTA	15	1.5
MgSO ₄ x 7H ₂ O	493	1
NH ₄ NO ₃	80	1
KH ₂ PO ₄	136	0.5
Microelemente		
H ₃ BO ₃	2.86	0.5
MnCl ₂ x 4H ₂ O	1.81	0.5
ZnSO ₄ x 7H ₂ O	0.22	0.5
CuSO ₄ x 5 H ₂ O	0.051	0.5
H ₃ MoO ₄ x H ₂ O	0.09	0.5

Tabel 4. 4. Compoziția soluției nutritive Hoagland suplimentată (adiționată) cu P

Componente	Soluția stoc [g/L]	Soluție stoc [ml/L]
KNO ₃	202	2.5
Ca(NO ₃) ₂ x 4H ₂ O	236	2.5
FeEDTA	15	1.5
MgSO ₄ x 7H ₂ O	493	1
NH ₄ NO ₃	80	1
KH ₂ PO ₄	136	1
Microelemente		
H ₃ BO ₃	2.86	0.5
MnCl ₂ x 4H ₂ O	1.81	0.5
ZnSO ₄ x 7H ₂ O	0.22	0.5
CuSO ₄ x 5 H ₂ O	0.051	0.5
H ₃ MoO ₄ x H ₂ O	0.09	0.5

Plantele aparținând variantelor v1 și M au fost udate ritmic cu apă, funcție de necesitățile funcționale, pe tot intervalul de cultivare, iar plantele aparținând variantelor v2, v3 și v4 au fost udate de câte două ori pe lună cu diluții ale soluțiilor stoc nutritive, în funcție de varianta experimentală, în restul intervalului fiind și ele udate, după necesități, cu apă.

Investigații histo – anatomice

Material biologic și metodă de lucru

Materialul vegetal a fost colectat de la exemplare mature, aflate în perioada de înflorire, în luna iunie 2019, iar organele vegetative (tulpini și frunze) au fost fixate în etanol 70%, pentru studiile de histo-anatomie.

Secțiunile transversale prin frunză și tulpină pentru plantele udate cu H₂O (v1) și pentru cele udate cu soluție nutritivă Hoagland standard (v2) au fost realizate prin metoda descrisă în **Capitolul 3** (v. pct. **3. 2. 1. Metoda și tehnica de lucru pentru realizarea secțiunilor transversale prin organele vegetative ale plantelor**).

Rezultate și discuții

Tulpina

La nivelul tulpinii au fost identificate toate straturile și structurile descrise și în alte studii anatomice asupra speciei *Lavandula angustifolia* (Toma și Niță, 1982; do Rocio Duarte și Carvalho de Souza, 2014; Fakhridinova și colab., 2020; Ștefan și colab., 2021).

În treimea sa superioară, tulpina prezintă un contur pătratic în secțiune transversală, cu patru coaste foarte proeminente (Figura 4. 1. – 4. 2.). Spre baza tulpinii coastele se atenuază, celulele epidermice din coaste devin mult alungite tangențial, elementele cordoanelor colenchimului se aplatizează mult, ultimul strat al scoarței se dediferențiază și dă un felogen, care produce un suber gros și câteva straturi de celule felodermice mici; cambiul devine inelar, astfel că din activitatea sa rezultă un inel subțire de liber secundar (cu tuburi ciuruite, celule anexe și celule parenchimatice) și un alt inel compus din lemn secundar, mai gros de-a lungul coastelor (format din vase, celule parenchimatice și mult libriform); razele medulare de la nivelul lemnului sunt sclerificate și lignificate, formând cu el un inel continuu (Toma și Niță, 1982; Fakhridinova și colab., 2020; Ștefan și colab., 2021).

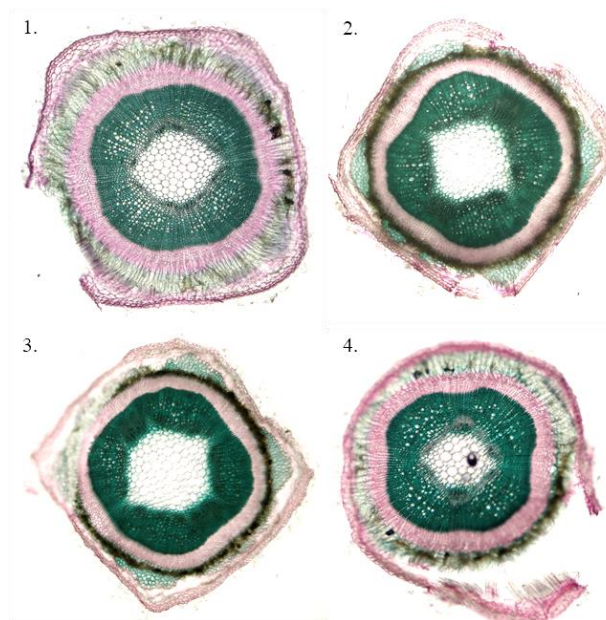


Figura 4. 1. Secțiuni transversale prin tulpina plantelor de *lavandă*, varietățile Codreanca (1), Provence Blue (2), Vera (3) și Sevtopolis (4) udate cu H₂O (varianta v1)(x40), (original)

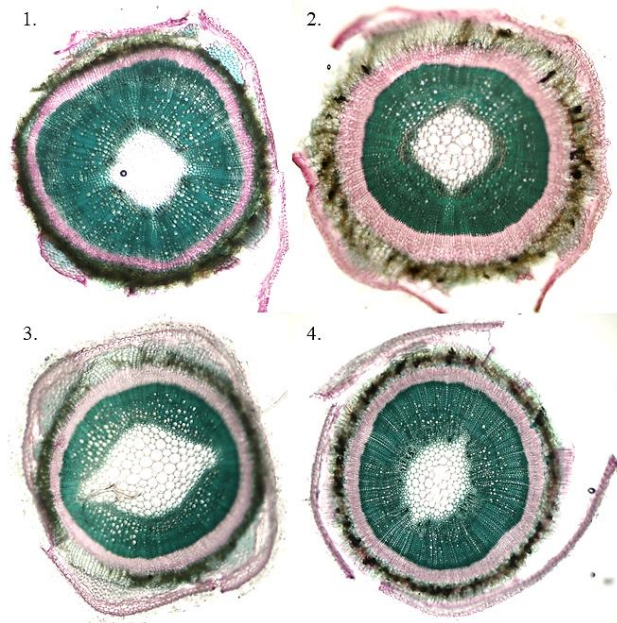


Figura 4. 2. Secțiuni transversale prin tulpina plantelor de *lavandă*, varietățile Codreanca (1), Provence Blue (2), Vera (3) și Sevtopolis (4) udate cu soluție nutritivă Hoagland standard (variante v2) (x40 (original))

Dediferențierea meristemului secundar, numit felogen, localizat în poziție profundă în apropierea cilindrului central, pe seama unui strat intern al scoarței, determină să se formeze către exterior un suber pluristratificat, cu elemente moarte la maturitate. Din acest motiv, tot ceea ce este la exteriorul său (restul de scoarță și epiderma) se vor exfolia și, prin urmare, la un moment dat tulpina va avea doar suber, felogen, liber (primar și secundar), lemn (primar și secundar) și măduvă, lucru confirmat și de alte studii de specialitate (Toma și Niță, 1982; Fakhridinova și colab., 2020; Ștefan și colab., 2021).

Pe măsură ce planta crește și se dezvoltă, tulpina suferă un proces de lignificare, specific subarbuștilor precum lavanda, iar tulpina își pierde epiderma și scoarța, precum și perii secretori și protectori odată cu acestea, aceste structuri rămânând vizibile doar pe porțiunile verzi ale tulpinilor, crescute în fiecare nou an de cultivare.

Limb foliar

Caracteristicile histo-anatomice ale frunzei pot fi observate în Figurile 4. 3. – 4. 4.

La nivelul secțiunilor transversale prin limb foliar a fost identificată, pentru toate varietățile prezentate, pe ambele fețe ale frunzei, o epidermă unistratificată, cu celule rotunjite, eliptice sau dreptunghiulare (puțin alungite tangențial), cu peretele exterior puțin mai gros decât celelalte și acoperit de o cuticulă subțire, lucru confirmat și de literatura de specialitate (Toma și Niță, 1982; Brailko și colab., 2017; Fakhridinova și colab., 2020).

Pe suprafața ambelor epiderme se găsesc numeroși peri protectori (uni-, bi- sau pluricelulari, uniserati sau ramificați) și secretori glandulari (cu pedicel scurt și glanda secretoare uni-, bi-, tetra- sau octocelulară) specifici acestei specii (Iriti și colab., 2006; Nikolakaki și colab., 2006; Huang și colab., 2008; Zuzarte și colab., 2010; Lungu și colab., 2014; Giuliani și colab., 2020).



Figura 4.3. Secțiuni transversale prin limbul foliar al plantelor de *lavandă*, varietățile Codreanca (1), Provence Blue (2), Vera (3) și Sevtopolis (4) udate cu H₂O (varianta v1) (x40) (original)

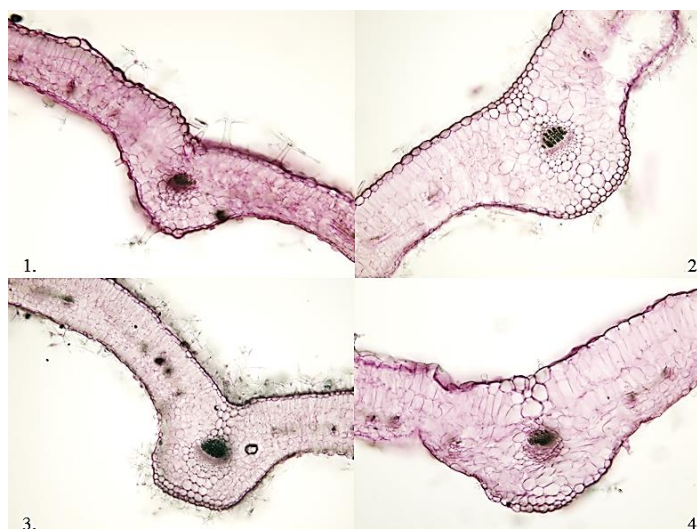


Figura 4.4. Secțiuni transversale prin nervura mediană a plantelor de *lavandă*, varietățile Codreanca (1), Provence Blue (2), Vera (3) și Sevtopolis (4) udate cu soluție nutritivă Hoagland (v2) (x100) (original)

Micromorfologia limbului foliar

Material biologic și tehnica de lucru

Materialul vegetal reprezentat de frunze proaspete aparținând varietăților speciei *Lavandula angustifolia* crescute în condiții controlate de mediu (v. pct. 4.1. **Materialul biologic și design-ul experimental**) a fost colectat de la exemplare mature, aflate în perioada de înflorire, în luna iunie 2019.

Preparatele microscopice pentru toate varietățile și variantele experimentale au fost realizate prin metoda descrisă anterior, în **Capitolul 3** (v. pct. 3.3.1. - **Metoda și tehnica de lucru pentru microscopia electronică de baleiaj (SEM)**).

Rezultate

Este bine cunoscut faptul că plantele din genul *Lavandula* prezintă numeroși peri secretori și protectori atât pe fața superioară, cât și pe cea inferioară a limbului foliar (Huang și colab., 2008; Zuzarte și colab., 2010).

Perii secretori la rândul lor, sunt împărțiți în peri glandulari și peltați, în funcție de structura glandei secretoare. În ambele cazuri substanțele secretate sunt acumulate într-un spațiu subcuticular. Perii peltați produc cea mai mare parte a uleiului volatil, având ca și componente principale terpenele (Turner și colab., 2000; Boz și colab., 2009; Zamfirache și colab., 2009, 2010; Zuzarte și colab., 2010; Burzo și Toma, 2013; Zuzarte, 2013).

Lavandula angustifolia - varietatea Codreanca

Pe ambele epiderme ale limbului foliar ale plantelor de lavandă aparținând varietății Codreanca au fost identificate două categorii de formațiuni epidermice din punct de vedere morfologic: peri protectori simpli și ramificați și peri secretori cu glanda unicelulară și cu glanda pluricelulară, cu o abundență mai mare pe suprafața abaxială a frunzei, pentru toate variantele experimentale (Tabel 4. 5.).

După analiza micrograțiilor pentru această varietate se constată diferențe între martor și variantele experimentale, care prezintă frecvențe mai scăzute, în special în cazul indivizilor udați cu H₂O (v1) și a celor suplimentați cu soluție Hoagland (v2).

Tabel 4. 5. Densitatea perilor secretori și protectori la *Lavandula angustifolia*, varietatea Codreanca, în toate variantele de tratament cu soluție nutritivă Hoagland (nr. peri / mm²) (n=3):

Specie/ varietate/ variantă		Epiderma superioară			Peri protectori	Epiderma inferioară			Peri protectori	
		Peri secretori				Peri secretori	Peri secretori			
		Capitați	Peltați	Total			Capitați	Peltați		Total
<i>L. angustifolia</i> var. Codreanca, varianta (v1)	Medie	13.41	3.72	17.14	42.01	29.71	10.20	39.91	45.94	
	Deviație standard	4.63	1.56	6.19	3.53	11.26	1.55	12.75	8.21	
<i>L. angustifolia</i> var. Codreanca, varianta (v2)	Medie	36.27	4.62	40.89	52.41	44.49	19.06	63.56	69.70	
	Deviație standard	9.46	1.96	7.72	6.71	5.38	2.36	6.33	10.53	
<i>L. angustifolia</i> var. Codreanca, varianta (v3)	Medie	25.63	4.87	30.50	33.76	91.80	20.68	112.48	85.67	
	Deviație standard	1.81	1.01	1.26	2.99	6.20	1.38	4.92	9.95	
<i>L. angustifolia</i> var. Codreanca, varianta (v4)	Medie	31.54	4.70	36.24	138.92	47.01	17.07	64.08	195.11	
	Deviație standard	3.81	1.55	5.25	11.01	8.34	3.44	10.31	11.67	
<i>L. angustifolia</i> var. Codreanca, varianta M	Medie	25.73	6.93	32.66	128.98	42.44	12.93	55.37	204.95	
	Deviație standard	4.33	1.72	3.99	10.15	3.90	0.98	4.55	11.08	

Lavandula angustifolia - varietatea Provence Blue

Pe suprafața epidermei superioare și inferioare alimbului foliar la exemplarele de lavandă aparținând varietății Provence Blue au fost identificate două categorii de formațiuni epidermice: peri protectori simpli și ramificați arborescent și peri secretori capitați și peltați.

Analizând densitatea perilor protectori, se remarcă, în cazul tuturor variantelor experimentale, prezența în număr mai mare a acestora pe fața inferioară a frunzei (Tabel 4. 6.).

Tabel 4. 6. Densitatea perilor secretori și protectori la *Lavandula angustifolia*, varietatea Provence Blue, în toate variantele de tratament cu soluție nutritivă Hoagland (nr. peri / mm²) (n = 3):

Specie/ varietate/ variantă		Epiderma superioară				Epiderma inferioară			
		Peri secretori			Peri protectori	Peri secretori			Peri protectori
		Capitați	Peltați	Total		Capitați	Peltați	Total	
<i>L. angustifolia</i> var. Provence Blue, varianta (v1)	Medie	29.08	18.27	47.36	148.77	16.70	25.51	42.22	212.60
	Deviație standard	7.76	5.08	11.27	19.18	9.04	2.39	10.79	14.54
<i>L. angustifolia</i> var. Provence Blue, varianta (v2)	Medie	23.55	6.89	30.44	80.54	24.53	14.87	39.40	143.17
	Deviație standard	8.47	2.01	10.10	12.13	2.26	3.12	5.33	15.13
<i>L. angustifolia</i> var. Provence Blue, varianta (v3)	Medie	27.78	2.26	30.04	84.62	59.61	13.91	73.51	115.26
	Deviație standard	3.92	1.48	2.58	5.77	3.46	1.69	5.10	7.42
<i>L. angustifolia</i> var. Provence Blue, varianta (v4)	Medie	58.36	5.57	63.93	80.00	67.71	15.12	82.83	114.97
	Deviație standard	3.13	0.56	3.07	8.19	6.86	2.11	8.89	11.59
<i>L. angustifolia</i> var. Provence Blue, varianta M	Medie	47.42	8.18	55.60	91.58	37.77	18.71	56.48	217.00
	Deviație standard	4.07	2.28	4.10	2.46	3.50	1.94	3.87	11.99

În urma tratamentelor aplicate, în cazul variantelor experimentale v3 și v4, se constată inhibarea dezvoltării perilor protectori și stimularea frecvenței perilor secretori capitați pe suprafața epidermei inferioare pentru plantele udate cu soluție nutritivă cu adădire de K (v3) și pe fața ambelor epiderme în cazul plantelor udate cu soluție nutritivă cu suplimentare de P (v4).

Lavandula angustifolia - varietatea Vera

La nivelul epidermei organelor vegetative aeriene (frunze) analizate ale exemplarelor de *Lavandula angustifolia* - varietatea Vera se observă două tipuri de peri: secretori și protectori. Numărul de peri pe unitatea de suprafață variază pe cele două fețe ale frunzei pentru toate variantele experimentale (Tabel 4. 7.).

Evaluând comparativ densitatea perilor secretori, se observă valori mai ridicate a numărului lor pe fața inferioară a limbului foliar, comparativ cu fața superioară la toate, la toate variantele experimentale ale acestei varietăți de lavandă, tipul de peri dominant fiind cel capitat.

Tabel 4. 7. Densitatea perilor secretori și protectori la *Lavandula angustifolia*, varietatea Vera, în toate variantele de tratament cu soluție nutritivă Hoagland (nr. peri / mm²) (n = 3):

Specie/ varietate/ variantă		Epiderma superioară				Epiderma inferioară			
		Peri secretori			Peri protectori	Peri secretori			Peri protectori
		Capitați	Peltați	Total		Capitați	Peltați	Total	
<i>L. angustifolia</i> var. Vera, varianta (v1)	Medie	32.78	3.95	36.72	110.19	38.13	28.10	66.24	228.26
	Deviație standard	13.03	0.92	13.21	4.05	11.67	10.21	17.79	17.38
<i>L. angustifolia</i> var. Vera, varianta (v2)	Medie	34.75	9.43	44.19	96.47	35.05	16.64	51.68	166.55
	Deviație standard	3.25	1.02	3.90	0.51	6.46	1.82	8.18	6.65
	Medie	43.11	5.83	48.94	162.35	56.97	14.84	71.80	278.58

<i>L. angustifolia</i> var. Vera, varianta (v3)	Deviație standard	2.31	1.16	3.05	4.64	6.24	2.28	5.03	5.10
<i>L. angustifolia</i> var. Vera, varianta (v4)	Medie	20.10	1.62	21.72	140.73	48.14	9.89	58.02	281.10
	Deviație standard	3.39	0.56	2.94	4.18	4.01	2.60	6.32	5.69
<i>L. angustifolia</i> var. Vera, varianta M	Medie	25.83	8.28	34.11	150.32	40.33	22.35	62.68	250.10
	Deviație standard	2.64	1.57	3.15	5.13	7.98	2.93	9.62	9.12

Comparând densitățile ambelor tipuri de peri la plantele analizate, se observă diferența numerică a acestora la martor și la plantele suplimentate cu soluție nutritivă cu adădire de fosfor (v4).

Lavandula angustifolia - varietatea *Sevtopolis*

Pe suprafața ambelor epiderme ale frunzei plantelor de lavandă aparținând varietății. *Sevtopolis*, ca și în cazul celorlalte varietăți analizate, au fost identificate două categorii de formațiuni epidermice diferite din punct de vedere morfologic și funcțional: peri protectori simpli și ramificați și peri secretori cu glanda unicelulară și pluricelulară, formațiuni mai numeroase pe suprafața abaxială a frunzei în cazul majorității variantelor experimentale ale acestei varietăți de lavandă (Tabel 4. 8.).

Tabel 4. 8. Densitatea perilor secretori și protectori la *Lavandula angustifolia*, varietatea *Sevtopolis*, în toate variantele de tratament cu soluție nutritivă Hoagland (nr. peri / mm²) (n = 3):

Specie/ varietate/ variantă		Epiderma superioară				Epiderma inferioară			
		Peri secretori			Peri protectori	Peri secretori			Peri protectori
		Capitați	Peltați	Total		Capitați	Peltați	Total	
<i>L. angustifolia</i> var. <i>Sevtopolis</i> , varianta (v1)	Medie	28.32	7.97	36.29	76.20	23.38	12.17	35.55	143.67
	Deviație standard	6.96	2.63	9.05	14.92	1.70	2.55	1.08	10.53
<i>L. angustifolia</i> var. <i>Sevtopolis</i> , varianta (v2)	Medie	44.58	5.95	50.54	76.84	55.75	12.40	68.15	167.70
	Deviație standard	7.63	1.59	8.95	2.42	5.40	0.18	5.22	21.62
<i>L. angustifolia</i> var. <i>Sevtopolis</i> , varianta (v3)	Medie	31.28	5.54	36.82	192.07	18.61	25.19	43.80	196.21
	Deviație standard	3.22	1.53	4.08	5.13	1.42	6.54	6.66	1.81
<i>L. angustifolia</i> var. <i>Sevtopolis</i> , varianta (v4)	Medie	44.58	7.05	51.63	177.30	48.48	19.65	68.12	263.30
	Deviație standard	3.60	1.47	4.74	8.02	1.00	2.01	2.49	8.94
<i>L. angustifolia</i> var. <i>Sevtopolis</i> , varianta M	Medie	17.98	3.21	21.19	94.39	46.05	25.12	71.17	142.01
	Deviație standard	2.40	0.56	1.90	5.97	0.60	2.90	3.40	6.10

Discuții

Toate varietățile și variantele experimentale avute în atenție prezintă numeroși peri protectori, uni-, bi- sau pluricelulari, uniseriați sau ramificați și mulți peri secretori glandulari de diferite tipuri, cel mai frecvent cu pedicel scurt și glanda secretoare uni-, bi-, tetra- sau octocelulară pe suprafața frunzei, specifici genului *Lavandula* (Huang și colab., 2005; Nikolakaki și Christodoulakis, 2006; Lungu și colab., 2014; Ștefan și colab., 2021).

La materialul analizat (varietăți de lavandă și variante experimentale de cultivare) cea mai mare densitate a perilor tectori a fost înregistrată pe suprafața inferioară a frunzelor la varietatea Vera, în cazul plantelor udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adădire de P și K (v4 -281,1 și v3 - 278,58), iar pe epiderma superioară la varietate Sevtopolis, la plantele aparținând variantelor udate cu soluție nutritivă cu adădire de K și P (v3 - 192,07 și, respectiv, v4 - 177,3) .

Cea mai mare densitate de peri secretori pe fața inferioară a frunzelor de lavandă a fost evidențiată la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adădire de K (v3 - 112,48) ale varietății Codreanca, urmate de cele suplimentate cu soluție cu adădire de P (v4 - 82,83) ale varietății Provence Blue. Pentru fața superioară a limbului foliar valorile cele mai mari s-au evidențiat la plantele udate cu soluție Hoagland cu adădire de P (v4 - 63,93), urmate de plantele din lotul martor (M - 55,6) ale varietății Provence Blue.

Concluzii preliminare

Datele obținute prin analiza histo-anatomică și micromorfologică a organelor vegetative (tulpini și frunze) la cele patru soiuri ale genului *Lavandula*, cu patru variante experimentale, discutate comparativ cu informațiile prezentate de literatura de specialitate în domeniu (Robu și colab., 2011; do Rocio Duarte și colab., 2014; Lungu și colab., 2014; Riva și colab., 2014; Brailko și colab., 2017; Tanase și colab., 2020) ne permit să considerăm că toate structurile histologice identificate la taxonii analizați sunt circumscrise, în general, planului structural tipic al genului.

Analiza comparativă a celor patru varietăți de lavandă avute în atenție evidențiază câteva diferențe calitative:

- la nivelul tulpinii:

- se observă variații ale conturului secțiunii transversale, iar epiderma și scoarța au tendință de exfoliere, datorită formării unui suber în profunzimea scoarței;

- cilindrul central prezintă o variație a pericilului între varietățile și variantele experimentale, și anume:

- periciclul lipsește la variantele udate cu apă aparținând varietățile Codreanca și Sevtopolis ;

- măduva prezintă diferențe ale formei, aceasta putând fi pătratică, hexagonală sau romboidală;

- la nivelul limbului foliar:

- se remarcă variații ale caracterelor anatomice ce țin de conturul secțiunii, de grosimea mezofilului, de numărul formațiunilor protectoare (peri protectori și secretori) și de numărul fasciculelor conducătoare libero-lemnoase corespunzătoare nervurilor laterale;

-pe suprafața ambelor epiderme ale limbului foliar pentru varietățile studiate, cât și pentru variantele experimentale este prezent un indumentum format din peri glandulari și protectori;

- densitatea perilor variază la taxonii analizați, identificându-se două tipuri de peri secretori: capitați și peltați și două tipuri de peri protectori: ramificați și neramificați, cu frecvență mai mare decât perii secretori pentru toți taxonii analizați, fapt confirmat și de alte studii asupra genului *Lavandula* (Martínez-Natarén și colab., 2011; Giuliani și colab., 2020; Ștefan și colab., 2021);

- densitatea perilor secretori și protectori este îmbunătățită la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adădire de K și P pentru toate varietățile luate în studiu.

Analiza numerică comparativă a perilor protectori și secretori la cele patru varietăți de lavandă, funcție de varianta de tratament aplicată, a permis evidențierea următoarelor aspecte:

La varietatea Codreanca:

- Densitatea cea mai ridicată a perilor protectori s-a întâlnit la plantele martor (M) și la cele udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adădire de P (v4).
- S-a observat stimularea dezvoltării numărului de peri secretori în cazul variantei experimentale cu adădire de K (v3), pe suprafața inferioară a limbului foliar.
- Cea mai mică frecvență a perilor secretori și protectori a fost observată la plantele udate cu H₂O (v1).

Pentru varietatea Provence Blue:

- Densitatea cea mai ridicată a perilor protectori a fost întâlnită la lotul de control (M) și la plantele udate cu H₂O (v1).
- Plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland cu dublă adădire de P (v4) au prezentat cea mai ridicată frecvență a perilor secretori.
- Valorile cele mai mici au fost înregistrate pentru perii protectori la plantele tratate cu soluție nutritivă suplimentată cu K și P (v3, respectiv v4), care au prezentat valori apropiate.

Varietatea Vera:

- Tratamentul cu soluție Hoagland cu cantități duble de K și P a mărit densitatea perilor protectori pe suprafața epidermei inferioare.
- Valorile cele mai mari ale numărului perilor secretori au fost observate la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adădire de K (v3).
- Plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland standard (v2) au prezentat cea mai mică frecvență a perilor protectori, iar cele udate cu soluție cu adaos de P (v4) au avut densitatea cea mai mică a perilor secretori pe fața ambelor epiderme ale frunzei.

La varietatea Sevtopolis:

- În urma tratamentului cu soluții nutritive Hoagland s-a constatat creșterea densității perilor protectori la plantele udate cu soluție nutritivă cu adădire de K și P (v3 și respectiv v4) pe suprafața ambelor epiderme ale limbului foliar.
- Perii secretori au prezentat o frecvență ridicată la lotul martor (M) pe fața inferioară a frunzei, la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland standard (v2) și la cele cu adădire de P (v4), care au prezentat valori similare.
- Densitatea cea mai redusă a perilor secretori a fost întâlnită la plantele udate cu H₂O (v1), în cazul epidermei inferioare și la cele crescute în câmp – plantele martor (M), în cazul epidermei superioare.

CAPITOLUL 5. ANALIZA CANTITATIVĂ ȘI CALITATIVĂ COMPARATIVĂ A ULEIULUI VOLATIL PRODUS DE PATRU VARIETĂȚI DE LAVANDULA ANGUSTIFOLIA MILL. SUPLIMENTATE CU TIPURI DIFERITE DE SOLUȚIE NUTRITIVĂ HOAGLAND

Extracția uleiurilor volatile

Material vegetal și metoda de lucru

Materialul vegetal de analiză a fost reprezentat de inflorescențe recoltate manual de la câte trei plante de lavandă aparținând speciei *Lavandula angustifolia* Mill., varietățile Codreanca, Provence Blue, Vera și Sevtopolis, cultivate în variante experimentale conform protocolului prezentat în **Capitolul 4** la punctul **4.1. Materialul biologic și design-ul experimental.**

Extracția uleiului volatil a fost realizată prin antrenare cu vapori de apă, cu un dispozitiv de hidrodistilare de tip Clevenger încălzit la foc direct, sub strictă supraveghere.

Analiza și caracterizarea GC - MS a uleiului volatil

Separarea compușilor a fost realizată cu ajutorul gaz cromatografului GC Agilent 6890N echipat cu un deprotector de ionizare a flăcării (FID) și cuplat cu spectrometrul de masă MSD 5975 (Agilent Technology, SUA), care lucrează la o energie de ionizare electronică de 70 eV.

Coloana capilară folosită a fost Teknokroma TBR-5MS (lungime 30m, diametru intern 0,25mm, grosimea filmului 0,25 μm), intrare: 230 ° C, raport de divizare 200: 1 (MS), 100: 1 (FID), debitul de He 0,5 ml / min (MS), 1,8 ml / min (FID), linie de transfer GC-MSD: 280 ° C, program de temperatură 60 ° C, 4 ° C / min -> 220 ° C, 20 ° C / min -> 320 ° C.

Randamentul de extracție

Cantitatea de ulei volatil obținut în urma extracției din plante a prezentat variații atât în funcție de varietatea de plante analizată, cât și în cadrul variantelor experimentale (de udare cu diferite tipuri de soluții nutritive Hoagland) (Tabel 5. 1.). Astfel, *Lavandula angustifolia* var. Provence Blue cultivată în câmp (M) este cea mai bogată în ulei volatil, atingând un randament maxim de 5,11 % în tijele florale uscate, urmată de plantele udare cu soluție nutritivă Hoagland standard (v2) aparținând varietății Sevtopolis (3,64 %).

Tabel 5. 1. Randamentul de extracție a uleiurilor volatile obținute prin hidrodistilare din patru varietăți de lavandă – *Lavandula angustifolia* Mill., suplimentate cu tipuri diferite de soluție nutritivă Hoagland

Specia/ varietatea	g s. u.	ml ulei	%
<i>L. angustifolia</i> – var. Codreanca (v1)	4.76	0.08	1.68
<i>L. angustifolia</i> – var. Codreanca (v2)	7.14	0.14	1.96
<i>L. angustifolia</i> – var. Codreanca (v3)	5.40	0.07	1.30
<i>L. angustifolia</i> – var. Codreanca (v4)	1.97	0.03	1.52
<i>L. angustifolia</i> – var. Codreanca M	24.86	0.53	2.13
<i>L. angustifolia</i> – var. Provence Blue (v1)	18.42	0.45	2.44
<i>L. angustifolia</i> – var. Provence Blue (v2)	11.85	0.3	2.53

<i>L. angustifolia</i> – var. Provence Blue (v3)	8.74	0.06	0.69
<i>L. angustifolia</i> – var. Provence Blue (v4)	5.79	0.08	1.38
<i>L. angustifolia</i> – var. Provence Blue M	24.45	1.25	5.11
<i>L. angustifolia</i> – var. Vera (v1)	8.20	0.16	1.95
<i>L. angustifolia</i> – var. Vera (v2)	12.93	0.28	2.17
<i>L. angustifolia</i> – var. Vera (v3)	8.78	0.14	1.59
<i>L. angustifolia</i> – var. Vera (v4)	7.01	0.12	1.71
<i>L. angustifolia</i> – var. Vera M	7.39	0.13	1.76
<i>L. angustifolia</i> – var. Sevtopolis (v1)	10.12	0.28	2.77
<i>L. angustifolia</i> – var. Sevtopolis (v2)	11.55	0.42	3.64
<i>L. angustifolia</i> – var. Sevtopolis (v3)	15.42	0.23	1.49
<i>L. angustifolia</i> – var. Sevtopolis (v4)	10.42	0.22	2.11
<i>L. angustifolia</i> – var. Sevtopolis M	20.70	0.43	2.08

Caracterizarea chimică a uleiurilor volatile

Lavandula angustifolia - varietatea Codreanca

Din analizele calitative și cantitative efectuate (Tabelul 5. 2.) se deduce că uleiul volatil produs de această varietate de lavandă, în variantele experimentale de suplimentare cu soluție nutritivă Hoagland, conține peste 60 de compuși, dintre care, în concentrații ridicate linalool, acetat de linalil, eucaliptol, borneol, terpinen-4-ol, camfor, acetat de lavandulil și cariofilen oxid.

Tabel 5. 2. Profilul biochimic al uleiurilor volatile produse de plante de lavandă, *Lavandula angustifolia* Mill.- varietatea Codreanca, suplimentate cu diferite tipuri de soluție nutritivă Hoagland

IR	Compus	Compoziție (%)			
		Varianta M	Varianta (v1)	Varianta (v2)	Varianta (v3)
811	acetat de butil	0.007	-	-	-
823	hexil metil eter	0.013	-	-	-
906	izobutirat de propil	0.475	-	-	-
926	triciclen	0.006	-	-	-
929	α -tuien	0.007	-	-	-
937	α -pinen	0.211	0.051	0.039	0.021
952	camfen	0.006	0.195	0.148	0.08
981	β -pinen	0.169	-	0.082	0.341
984	3-octanona	0.727	0.147	0.589	0.652
991	β -mircen	1.1	0.293	0.623	0.926
1011	acetat de hexil	0.234	0.097	0.146	0.212
1014	3-caren	0.054	-	-	0.055
1019	terpinolen	0.03	-	0.218	0.33
1026	<i>o</i> -cimen	0.09	0.128	0.066	0.161
1031	D-limonen	0.288	0.137	0.19	0.382
1035	eucaliptol	6.754	2.919	2.892	4.991
1047	<i>trans</i>-β-ocimen	3.009	0.402	3.058	2.619
1060	γ -terpinen	0.011	-	0.412	-

IR	Compus	Compoziție (%)			
		Varianta M	Varianta (v1)	Varianta (v2)	Varianta (v3)
1069	sabinen hidrat	0.215	0.011	0.234	0.018
1074	<i>cis</i> -linalool oxid	0.525	0.018	0.144	0.026
1090	<i>trans</i> -linalool oxid	0.292	-	-	-
1104	linalool	22.919	19.549	17.437	17.75
1111	acetat de 1-octenil	0.974	0.678	3.712	1.064
1122	acetat de 3-octanil	0.109	0.213	0.447	0.366
1149	camfor	0.601	0.659	0.461	0.782
1156	nerol oxid	0.064	-	-	-
1186	<i>p</i> -cimen-8-ol	-	0.166	-	0.04
1160	sabin-cetona	0.032	-	-	-
1162	mirtenol	-	0.215	-	-
1170	borneol	2.312	3.295	2.076	2.562
1182	terpinen-4-ol	3.104	1.575	2.203	1.506
1189	criptona	0.166	0.527	0.878	0.197
1195	α-terpineol	4.011	2.863	2.746	2.751
1208	2.6-dimetil-3.5.7-octatrien-2-ol. E.E	0.249	0.199	0.314	0.072
1212	crizantenona	0.052	-	-	0.261
1221	<i>cis</i> -carveol	0.159	0.118	0.132	-
1230	nerol	0.919	0.945	0.546	0.747
1232	format de bornil	-	0.156	0.296	0.227
1243	cumaldehida	0.392	0.311	0.135	0.282
1247	D-carvona	0.19	0.146	0.052	0.137
1257	acetat de linalil	27.134	34.497	24.839	32.212
1291	acetat de lavandulil	3.64	6.1	2.811	5.637
1301	carvacrol	-	-	1.8	-
1330	tiglat de hexil	0.012	-	0.029	-
1364	acetat de neril	1.111	1.252	1.171	1.14
1383	acetat de geranil	2.091	2.515	2.394	2.252
1426	α -santalen	0.375	0.506	0.269	0.452
1430	<i>trans</i>-β-cariofien	2.661	2.707	2.501	1.983
1441	<i>trans</i> - α -bergamoten	0.199	0.176	0.244	0.159
1451	β -sesquiphellandrene	0.016	-	-	-
1459	E- β -farnesen	0.245	0.239	0.153	0.156
1463	humulen	-	-	-	0.009
1469	1.5.9.9-tetrametil. Z.Z.Z 1.4.7- cicloundecatriena	0.015	0.024	-	-

IR	Compus	Compoziție (%)			
		Varianta M	Varianta (v1)	Varianta (v2)	Varianta (v3)
1490	germacren D	0.353	0.655	0.421	0.372
1513	β-bisabolen	0.02	-	-	-
1522	γ-muurolen	0.201	0.389	0.212	0.35
1525	4-metil-a-(1-metil-2-propenil) benzenmetanol	-	-	0.377	1.525
1558	cis-sescvisabinen hidrat	0.025	-	-	-
1570	humulen-1.2-epoxid	0.026	-	-	-
1594	cariofilen oxid	2.394	2.63	2.895	3.662
1633	epicubenol	0.094	0.247	-	-
1668	τ-cadinol	0.875	2.270	1.253	1.545
1721	muurol-5-en-4-ona	0.015	0.106	0.252	0.074
1777	benzoat de benzil	0.02	-	-	-
1812	5-hidroxi-calamenen	-	-	0.065	-
Total		91.982	90.326	81.962	91.086

Pentru uleiurile volatile obținute de la varietatea Codreanca, grupurile de compuși majoritari au fost monoterpenesterii (31,66 – 44,58 %) și monoterpenolii (25,01 – 33,27 %) pentru toate variantele experimentale analizate. Cea mai mare abundență a esterilor a fost identificată la plantele crescute în mediu udat cu H₂O (v1), iar pentru alcoolii cele mai mari valori le prezintă lotul martor (M), reprezentat de plantele crescute în câmp (Figura 5. 3.).

Niciunul dintre uleiurile analizate nu s-au încadrat în cerințele standard farmaceutice, fiind considerate ca necorespunzătoare uzului în acest scop.

Conform standardelor prezentate în Farmacopeea Europeană, compușii din uleiurile analizate pentru acest cultivar, ce nu se integrează între valorile impuse, sunt reprezentați de linalool, care s-a plasat sub limită pentru toate variantele experimentale (v1, v2, v3), α-terpineol și eucaliptol, la care cantitățile determinate au depășit cerințele pentru toate cele patru tipuri de ulei analizate și lavandulolul, care nu a fost identificat în niciuna dintre probe.

***Lavandula angustifolia* - varietatea Provence Blue**

Rezultatele obținute (Tabel 5. 3.) indică faptul că în uleiul volatil de produs de această variantă de lavandă se găsesc peste 70 diferiți compuși organici, în acest caz componentele majore fiind linaloolul (12 – 40 %), identificat atât în stare liberă, cât și parțial esterificat, sub formă de acetat de linalil (15 – 30 %), acetatul de lavandulil (2,3 – 5,1%), borneolul (0,8 – 5,1 %), terpinenul – 4 - ol și α - terpineolul (0,4 – 5,9 %, respectiv 1,1 – 3,7 %).

Tabel 5. 3. Profilul biochimic al uleiurilor volatile produse de plantele de lavandă, *Lavandula angustifolia* - varietatea Provence Blue, suplimentate cu diferite tipuri de soluție nutritivă Hoagland

IR	Compus	Compoziție (%)				
		Varianta M	Varianta (v1)	Varianta (v2)	Varianta (v3)	Varianta (v4)
811	acetat de butil	0.026	-	0.008	-	-
823	hexil metil eter	0.171	-	0.009	-	-
906	izobutirat de propil	-	-	0.008	-	-
926	triciclen	-	-	-	-	0.045
929	α -tuien	-	-	0.13	-	-
937	α -pinen	0.113	0.13	0.196	0.156	0.04
949	izobutirat de butil	-	-	-	0.066	-
952	camfen	0.17	0.295	0.049	0.652	0.639
973	3.7.7-trimetil 1.3.5-cicloheptatriena	-	-	-	0.155	-
978	1-octen-3-ol	-	-	-	0.501	-
981	β -pinen	-	0.099	0.147	0.398	0.233
984	3-octanona	2.892	0.758	0.326	0.666	0.809
991	β -mircen	0.973	0.212	0.094	0.035	0.686
994	butirat de butil	0.683	-	-	-	-
1008	α -felandren	0.087	-	-	-	-
1011	acetat de hexil	1.081	0.496	0.298	1.508	0.652
1014	3-caren	0.007	0.069	0.047	-	-
1019	terpinolen	0.243	-	-	-	-
1026	<i>o</i> -cimen	0.153	0.078	0.118	0.501	0.077
1031	D-limonen	1.515	0.261	0.371	0.398	0.578
1035	eucaliptol	1.652	0.548	0.436	0.838	3.154
1047	<i>trans</i>-β-ocimen	3.62	5.351	5.952	0.302	0.626
1060	γ -terpinen	0.087	-	0.056	0.143	-
1069	sabinen hidrat	0.175	0.134	0.258	-	0.009
1074	<i>cis</i> -linalool oxid	-	-	0.314	-	-
1090	<i>trans</i> -linalool oxid	0.068	0.798	0.307	0.277	-
1104	linalool	40.744	30.769	23.311	12.106	25.33
1129	α -camfolenal	-	-	-	0.459	-
1131	(Z)- β -ocimen epoxid	-	-	-	0.239	0.033
1111	acetat de 1-octenil	0.863	0.895	1.144	4.14	1.07
1122	acetat de 3-octanil	0.31	0.103	-	0.656	-
1128	pinocarvona	-	-	-	0.181	-

IR	Compus	Compoziție (%)				
		Varianta M	Varianta (v1)	Varianta (v2)	Varianta (v3)	Varianta (v4)
1147	izobutirat de <i>n</i> -hexil	0.078	-	-	-	-
1149	camfor	0.167	0.386	0.317	0.44	1.393
1168	lavandulol	1.523	1.073	-	-	-
1170	L-borneol	0.869	1.578	1.218	2.018	5.162
1174	(3Z, 5E)-1.3.5-undecatriena	0.121	-	0.115	-	-
1182	terpinen-4-ol	2.523	2.336	5.974	0.482	2.845
1195	α-terpineol	3.777	2.858	2.525	1.149	2.628
1210	<i>cis</i> -piperitol	0.077	-	-	-	-
1221	<i>cis</i> -carveol	0.046	-	0.019	-	-
1232	format de bornil	0.061	-	-	-	-
1189	criptona	0.079	1.162	-	-	-
1190	butirat de <i>n</i> -hexil	2.007	-	0.432	-	1.207
1162	mirtenol	0.04	-	-	-	-
1230	nerol	0.685	0.575	0.527	0.39	0.731
1236	butirat de 2-metil-hexil	0.048	0.329	-	12.01	-
1237	acetoacetate de hexil	-	-	0.059	-	-
1243	cumaldehida	0.435	0.097	0.051	0.25	0.055
1247	D-carvona	0.132	0.128	0.015	0.099	0.227
1257	acetat de linalil	16.344	28.084	27.712	15.364	18.473
1301	carvacrol	-	-	-	0.046	0.266
1279	acetat de fragranil	-	-	-	0.756	-
1291	acetat de lavandulil	5.151	4.325	3.926	2.315	4.256
1330	tiglat de hexil	0.065	0.074	0.025	0.1	-
1352	acetat de α -terpinil	0.035	-	-	-	-
1364	acetat de neril	0.894	0.822	0.766	0.537	1.023
1383	acetat de geranil	1.594	1.586	1.708	1.229	2.071
1394	sescvitiuen	-	-	0.018	-	-
1385	hexanoat de <i>n</i> -hexil	0.18	-	-	-	-
1426	α -santalen	-	0.357	-	0.174	0.383
1394	zingiberen	0.05	-	-	-	-
1430	<i>trans</i>-β-cariofilen	1.973	2.476	4.792	-	-
1378	α -cedren	-	-	0.014	-	-
1441	<i>trans</i> - α -bergamoten	0.062	0.122	0.364	0.513	-

IR	Compus	Compoziție (%)				
		Varianta M	Varianta (v1)	Varianta (v2)	Varianta (v3)	Varianta (v4)
1459	(E)- β -farnesen	2.377	1.271	1.209	0.174	0.144
1469	1.5.9.9-tetrametil-. Z.Z.Z-1.4.7.- cicloundecatriena.	-	0.127	-	-	-
1490	germacren D	0.484	0.421	0.31	-	0.37
1513	α -selinen	-	-	0.031	-	-
1522	γ -muurolen	0.058	0.384	0.069	0.152	-
1565	nerolidol	0.041	-	-	-	-
1530	<i>cis</i> -calamenen	-	0.155	0.139	-	-
1570	humulen-1.2-epoxid	-	-	-	0.15	-
1594	cariofilen oxid	0.587	1.593	2.694	14.83	8.208
1633	epicubenol	-	0.133	0.225	-	-
1647	<i>trans</i> -geranil geraniol	0.049	-	-	-	-
1668	τ-cadinol	0.427	1.407	2.277	1.055	0.914
1721	muurol-5-en-4-ona cis-14-nor	-	0.204	0.031	0.686	0.227
1723	farnesol	0.123	-	-	-	-
1777	benzoat de benzil	-	0.18	-	0.108	-
1797	6.10.14-trimetil 2- pentadecanona	-	-	-	0.041	-
	Total	98.795	95.239	91.123	84.564	79.561

În cazul uleiurilor volatile obținute din inflorescențele uscate ale acestei varietăți, grupurile de compuși majoritari au fost reprezentate de esteri (20,10 – 34,92 %) și alcooli (16,15 – 50,12 %) pentru toate probele analizate. Cele mai mari valori ale monoterpenesterilor au fost identificate la plantele udate cu H₂O (v1) și la cele cu soluție nutritivă Hoagland standard, care au prezentat valori asemănătoare, iar monoterpenolii se găsesc în concentrații mari la lotul martor (M), reprezentat de plantele crescute în câmp.

Niciunul dintre uleiurile analizate nu s-au încadrat, prin compoziția lor, în cerințele standard farmaceutice prezentate de Farmacopee pentru utilizare în scop medicinal, fiind considerate, deci, necorespunzătoare uzului în acest scop.

***Lavandula angustifolia* - varietatea Vera**

Conform rezultatelor practice obținute (Tabel 5. 4.), în uleiul volatil extras din variantele experimentale ale acestei variante de lavandă se găsesc 64 de compuși diferiți.

Tabel 5. 4. Profilul biochimic al uleiurilor volatile produs de plantele de lavandă, *Lavandula angustifolia* - varietatea Vera, suplimentate cu diferite tipuri de soluție nutritivă Hoagland

IR	Compus	Compoziție (%)				
		Varianta M	Varianta (v1)	Varianta (v2)	Varianta (v3)	Varianta (v4)
811	acetat de butil	-	-	-	0.015	-
823	hexil metil eter	-	0.021	-	-	0.011
926	triciclen	0.029	-	-	-	-
937	α -pinen	0.182	0.1	0.133	0.074	1.047
949	izobutirat de butil	-	-	-	0.201	-
952	camfen	0.44	0.261	0.457	0.126	0.314
978	1-octen-3-ol	0.527	-	-	0.375	0.196
981	β -pinen	-	0.652	0.16	0.081	0.235
984	3-octanona	1.067	0.832	1.013	0.34	0.251
991	β -mircen	0.381	0.789	1.232	0.32	0.187
994	butirat de butil	-	0.285	-	-	-
1008	α -felandren	0.106	0.036	-	-	-
1011	acetat de hexil	0.237	0.668	0.257	0.362	0.302
1013	<i>p</i> -menta-1(7).-8-diena	-	0.078	-	0.065	-
1014	3-caren	-	-	0.026	-	-
1026	<i>o</i> -cimen	0.092	0.166	0.795	0.086	0.343
1031	D-limonen	0.021	0.553	-	0.363	0.112
1035	eucaliptol	2.737	2.95	6.302	5.615	0.337
1047	trans-β-ocimen	1.047	1.344	2.043	0.198	0.175
1060	γ -terpinen	0.11	-	-	-	-
1069	sabinen hidrat	0.464	0.251	0.158	0.174	-
1074	<i>cis</i> -linalool oxid	0.631	0.289	-	-	0.239
1090	<i>trans</i> -linalool oxid	0.625	-	0.346	0.766	0.181
1104	linalool	37.816	36.613	26.981	35.719	28.131
1111	acetat de 1-octenil	0.652	3.048	0.904	2.075	9.485
1122	acetat de 3-octanil	-	-	0.306	-	-
1149	camfor	1.083	0.651	0.681	0.501	0.866
1168	lavandulol	7.251	0.595	-	0.752	-
1170	L-borneol	2.336	2.294	2.384	1.865	2.312
1182	terpinen-4-ol	3.753	3.404	2.583	2.173	1.913
1195	α-terpineol	1.108	1.694	5.315	1.904	1.239
1221	<i>cis</i> -carveol	-	-	0.199	0.219	-
1232	format de bornil	-	0.141	-	0.172	0.156
1189	criptona	-	-	0.674	0.196	-
1190	butirat de <i>n</i> -hexil	1.15	1.079	-	-	1.055

IR	Compus	Compoziție (%)				
		Varianta M	Varianta (v1)	Varianta (v2)	Varianta (v3)	Varianta (v4)
1208	2.6-dimetill-3.5.7-octatrien-2-ol. E. E	0.171	-	-	0.175	-
1212	crizantenona	-	-	-	0.087	-
1230	nerol		0.253	1.139	0.379	0.2
1236	butirat de 2-metil-hexil	-	0.061	-	0.067	-
1243	cumaldehida	0.071	0.215	0.1	0.604	-
1247	D-carvona	0.123	0.11	0.051	0.251	-
1257	acetat de linalil	10.659	19.861	23.513	16.593	12.18
1301	carvacrol	-	-	-	0.164	-
1291	acetat de lavandulil	3.009	4.308	3.995	2.685	8.064
1300	<i>o</i> -cimen-5-ol	0.154	-	-	-	-
1330	tiglat de hexil	0.092	0.064	0.036	-	0.04
1364	acetat de neril	0.387	0.449	1.541	0.589	0.319
1383	acetat de geranil	0.161	0.762	3.05	1.206	0.847
1385	hexanoat de <i>n</i> -hexil	0.717	-	-	-	-
1426	α -santalen	-	-	-	0.288	0.334
1430	<i>trans</i>-b-cariofilen	4.726	2.119	1.697	1.258	2.588
1391	β -cubeben	0.297	-	-	-	-
1441	<i>trans</i> - α -bergamoten	-	-	0.106	0.161	-
1459	(E)- β -farnesen	0.103	0.639	0.131	0.435	1.19
1463	humulen	0.216	-	-	-	-
1490	germacren D	-	0.093	0.273	0.107	0.152
1522	γ -muurolen	-	0.231	0.214	0.366	-
1594	cariofilen oxid	5.965	1.693	2.182	4.769	6.62
1633	epicubenol	-	-	0.102	0.223	-
1668	τ-cadinol	0.324	0.727	0.939	1.904	1.621
1721	muurol-5-en-4-ona cis-14-nor	-	0.121	0.212	0.377	-
	Total	91.02	90.5	92.23	83.242	87.425

Pentru uleiurile volatile obținute din inflorescențele cultivarului Vera, grupurile de compuși majoritari identificați au fost monoterpenerii (14,22 – 32,41 %) și monoterpenuii (33,8 – 52,26 %) pentru toate variantele experimentale analizate. Cea mai mare abundență a esterilor a fost identificată la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland standard (v2), iar pentru alcoolii cele mai mari valori le prezintă lotul martor (M), reprezentat de plantele crescute în câmp.

Conform standardelor internaționale de calitate, compușii din probele de ulei volatil analizate pentru acest cultivar nu se integrează între valorile cerute de Farmacopee. Valori care au depășit cerințele impuse au fost întâlnite în cazul α -terpineolului la plantele udate cu soluție Hoagland standard (v2), în cazul acetatului de lavandulil la varianta experimentală udată cu soluție Hoagland suplimentată cu P (v4), iar eucaliptolul a fost

identificat în concentrație mărită la toate variantele experimentale, cu excepția celei udate tot cu soluție nutritivă Hoagland cu adăuție de P (v4).

***Lavandula angustifolia* - varietatea Sevtopolis**

Din rezultatele obținute în urma analizei GC – MS, pentru varietatea Sevtopolis au fost detectați peste 90 de compuși organici, dintre care majoritatea este reprezentată de linalool (24 – 33,6%) și acetatul de linalil (13 – 24%).

Alți compuși importanți în compoziția uleiului sunt acetatul de lavandulil (2,6-4,3%), eucaliptol (1,5 – 4,9%), terpinen-4-ol (1,8 – 2,4%), α -terpineol (2,6 – 3,8%), borneol (1,3-3,9%), conform Tabelului 5. 5.

Tabel 5. 5. Profilul biochimic al uleiurilor volatile produs de plantele de lavandă, *Lavandula angustifolia* - varietatea Sevtopolis, suplimentate cu diferite tipuri de soluție nutritivă Hoagland

IR	Compus	Compoziția (%)				
		Varianta M	Varianta (v1)	Varianta (v2)	Varianta (v3)	Varianta (v4)
782	3-metil 2-butenal	0.036	-	-	-	-
811	acetat de butil	-	-	0.026	-	0.025
823	hexil metil eter	0.006	-	0.075	-	0.07
862	1-hexanol	0.022	-	-	-	-
893	4-metilen 5-hexanal	0.009	-	-	-	-
906	izobutirat de propil	-	-	-	-	0.021
929	α -tuien	0.038	-	0.023	0.022	0.007
937	α -pinen	0.173	-	0.109	0.093	0.184
949	izobutirat de butil	-	-	0.018	0.093	0.038
952	camfen	0.339	-	1.277	0.405	0.657
973	3.7.7-trimetil 1.3.5-cicloheptatriena	0.016	-	-	-	-
981	β -pinen	0.007	-	0.225	0.225	0.37
984	3-octanona	1.095	1.508	1.784	1.665	1.912
991	β -mircen	0.766	-	0.79	0.679	0.759
1009	dehidroxihidrolina lool oxid	0.317	-	-	-	-
1011	acetat de hexil	0.552	0.824	0.77	0.874	0.996
1014	3-caren	0.032	-	0.097	-	-
1026	<i>o</i> -cimen	0.705	0.322	0.331	0.187	0.458
1031	D-limonen	0.592	0.602	0.871	0.442	0.74
1035	eucaliptol	3.49	3.172	2.661	1.523	4.992
1047	<i>trans</i>-b-ocimen	1.461	0.686	3.249	1.383	0.752
1060	γ -terpinen	0.094	-	0.007	-	0.011
1069	sabinen hidrat	0.358	-	0.134	0.13	0.293
1074	<i>cis</i> -linalool oxid	2.646	0.59	0.263	0.688	0.669
1090	<i>trans</i> -linalool oxid	1.953	-	0.316	0.492	0.79

IR	Compus	Compoziția (%)				
		Varianta M	Varianta (v1)	Varianta (v2)	Varianta (v3)	Varianta (v4)
1104	linalool	25.441	33.66	33.17	24.998	30.148
1111	acetat de 1-octenil	1.631	0.816	0.715	2.865	1.155
1122	acetat de 3-octanil	-	-	0.373	0.514	0.4
1128	pinocarvona	-	-	-	0.458	-
1129	α -camfolenal	0.035	-	-	-	-
1131	(Z)-b-ocimen epoxid	0.13	-	-	0.103	0.211
1133	tiglat de <i>n</i> -butil	-	-	0.023	-	0.127
1137	<i>cis-p-menta-2,8-dien-1-ol</i>	-	-	0.023	-	-
1149	camfor	0.123	0.378	0.383	0.61	1.008
1156	nerol oxid	0.075	-	-	0.068	-
1186	<i>p</i> -cimen-8-ol	0.232	-	-	0.278	-
1162	mirtenol	-	-	-	0.816	-
1168	lavandulol	0.364	0.529	-	-	-
1170	borneol	1.415	1.331	1.485	2.275	3.957
1182	terpinen-4-ol	2.406	2.237	1.978	1.833	2.192
1189	criptona	1.211	-	0.148	1.383	0.158
1190	butirat de <i>n</i> -hexil	-	1.28	-	-	1.729
1191	octil esterul acidului butanoic	-	-	1.493	-	-
1195	α-terpineol	3.198	3.85	3.253	3.08	2.656
1199	butanoate de butil 2-metil	-	-	-	0.244	-
1200	E-ocimenol	1.017	-	-	-	-
1207	propanal, 2-metil butanoat	-	-	-	0.28	-
1208	2,6-dimetil-3,5,7-octatrien-2-ol, E,E	-	-	0.022	0.326	0.215
1210	<i>cis</i> -piperitol	-	-	0.074	-	-
1221	<i>cis</i> -carveol	0.044	-	-	0.153	0.073
1230	nerol	0.732	0.82	0.631	0.613	0.62
1232	format de bornil	0.14	-	0.099	0.244	0.257
1236	hexil 2-metil butirat	-	-	0.041	-	0.118
1243	cumaldehida	0.376	-	0.407	-	0.531
1247	D-carvona	0.176	-	0.026	0.143	0.242
1257	acetat de linalil	19.318	21.009	24.009	13.602	15.75
1262	2,3,5,6-tetrametil fenol	-	-	-	0.252	-
1271	citral	0.061	-	-	-	-

IR	Compus	Compoziția (%)				
		Varianta M	Varianta (v1)	Varianta (v2)	Varianta (v3)	Varianta (v4)
1291	acetat de lavandulil	3.783	4.334	2.671	3.59	4.021
1300	<i>o</i> -cimen-5-ol	-	-	-	-	0.177
1301	carvacrol	-	-	-	0.797	-
1330	tiglat de hexil	-	-	0.061	0.069	-
1345	caproat de hexil	-	-	-	0.494	-
1364	acetat de neril	0.893	1.155	0.902	0.993	0.856
1378	α -cedren	-	-	-	0.219	-
1383	acetat de geranil	1.746	2.218	1.688	1.739	1.644
1384	izocariofilen	-	-	-	1.03	-
1385	hexanoat de hexil	-	-	0.102	-	0.163
1394	sescvituien	-	-	0.012	-	-
1422	2-epi-a-funebren	0.132	-	-	-	-
1426	α -santalen	0.273	-	0.267	-	0.344
1430	<i>trans</i> - β -cariofien	0.457	-	1.891	-	0.84
1441	<i>trans</i> - α -bergamoten	-	-	0.147	0.117	0.012
1459	E- β -farnesen	0.153	1.631	1.89	0.973	0.762
1490	germacren D	-	-	0.376	0.173	0.214
1513	β -bisabolen	-	-	0.108	-	-
1522	γ -muurolen	0.342	-	0.257	0.348	0.268
1525	4-metil-a-(1-metil-2-propenil)benzenmetanol	-	-	-	1.479	-
1530	<i>cis</i> -calamenen	0.061	-	0.04	0.082	-
1549	1.2.3.4-tetrahidro-2.5.8-trimetil-naftalen	0.021	-	-	-	-
1558	<i>cis</i> -sescvisabinen hidrat	-	-	-	-	0.02
1565	nerolidol	-	-	0.099	-	-
1570	humulen-1.2-epoxid	0.197	-	-	0.342	-
1594	cariofilen oxid	7.435	-	1.359	8.447	5.262
1633	epicubenol	-	-	0.096	0.376	-
1667	<i>cis</i> -muurola-4(14).5-diena	-	1.015	-	-	-
1668	τ -cadinol	1.332	-	0.982	2.108	1.045
1702	α -calacoren	-	-	0.137	-	-
1721	muurol-5-en-4-ona	0.258	-	0.158	0.144	0.047

IR	Compus	Compoziția (%)				
		Varianta M	Varianta (v1)	Varianta (v2)	Varianta (v3)	Varianta (v4)
1740	muurola-4.10(14)-dien-1b-ol	-	-	0.023	-	-
1777	benzoat de benzil	0.045	-	-	0.261	-
1770	(4aS.8S.8aR)-8-izopropil-5-metil-3.4.4a.7.8.8a-hexahidronaftalen-2-il)metanol	0.034	-	-	-	0.032
Total		89.994	83.967	94.645	91.184	87.82

Pentru uleiurile volatile obținute din plantele aparținând acestei varietăți de lavandă grupurile de compuși majoritari identificați au fost esterii monoterpenici (20,44 – 29,64 %) și alcoolii (32,8 – 42,43 %) pentru toate variantele experimentale analizate, urmate de sesquiterpene (1,63 – 9,59 %). Cea mai mare cantitate de esteri a fost identificată la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland standard (v2), iar pentru monoterpenoli cele mai mari valori au fost înregistrate la plantele udate cu H₂O (v1).

Niciunul dintre uleiurile analizate nu s-au încadrat în cerințele internaționale standard de calitate, compușii din probele analizate pentru acest cultivar ce nu se încadrează în intervalele de valori impuse de Farmacopee fiind reprezentați de acetatul de linalil, care s-a plasat sub limită pentru toate variantele analizate, α -terpineolul și eucaliptolul, care a înregistrat cantități ce depășesc cerințele standardelor pentru majoritatea probelor investigate și lavandulolul, care nu a fost identificat pentru niciuna dintre variantele experimentale udate cu soluții nutritive Hoagland (v2, v3 și v4).

Discuții

Analiza cantitativă și calitativă a uleiurilor volatile obținute prin hidrodistilarea inflorescențelor uscate aparținând la patru varietăți de *Lavandula angustifolia* udate cu diferite tipuri de soluție nutritivă Hoagland a evidențiat următoarele: concentrația componentelor tuturor varietăților și variantelor experimentale a fluctuat intraspecific și interspecific, în funcție de varietatea analizată și de condițiile de cultivare asigurate, confirmând practic afirmațiile din literatura de specialitate în acest sens (Tucker și colab., 1984; Koç, 2000; Baranauskienė și colab., 2003; Arabaci și Bayram, 2004; Biesiada și colab., 2008; Camen și colab., 2016; Chrysargyris și colab., 2016, 2017; Silva și colab., 2017; Skoufogianni și colab., 2017).

Analiza celor 19 probe de ulei volatil extras din variantele avute în lucru a prezentat un interval numeric larg de componente identificate - între 22 și 59. În acest sens evidențiem varietatea Sevtopolis, cu cel mai mare număr de componente ale uleiurilor volatile extrase în toate variantele experimentale - între 56 și 59 de compuși biochimici - cu excepția plantelor aparținând variantei v1 (udate cu H₂O), în a căror ulei au fost identificați doar 22 compuși.

Privită în ansamblu, compoziția uleiurilor volatile analizate este asemănătoare, existând totuși și deosebiri, ce le individualizează. Astfel, un număr relativ ridicat de componente sunt comune pentru uleiurile extrase din toate varietățile și variantele experimentale, componente care se individualizează, însă, prin atingerea de concentrații diferite în respectivele mostre de uleiuri. Astfel, am putea chiar considera că, de fapt,

uleiurile volatile extrase sunt alcătuite din aceleași componente majore, fiind foarte greu de deosebit varietățile de plante producătoare doar pe baza compoziției uleiurilor volatile produse.

Componentele majore detectate în toate probele analizate de uleiuri volatile extrase din inflorescențele celor patru variante de *L. angustifolia* au fost linalool (12,1 – 40,7 %), acetat de linalil (10,7 – 34,5 %), camfor (0,12 – 1,39 %) și eucaliptol (0,34 – 6,75 %). Rezultatele obținute confirmă datele din studii asemănătoare, care au raportat ca substanțe în cantitate mare linalool, acetat de linalil, eucaliptol, β - ocimen, terpinen-4-ol și camfor ca și constituenți principali ai uleiului volatil al speciei *L. angustifolia* (Lis-Balchin, 2002a; Zamfirache și colab., 2010; Robu și colab., 2011a; Jianu și colab., 2013; Saadatian și colab., 2013; Tomescu și colab., 2015; Aprotosoia și colab., 2017; Blažeković și colab., 2018).

În experimentele desfășurate practic, nici una dintre probele de ulei volatil extras din varietățile de lavandă cultivate în variantele tratate cu diferite tipuri de soluții nutritive Hoagland nu s-a încadrat în toți parametrii de calitate impuși de standardele internaționale, cele mai mari diferențe fiind observate cu privire la concentrația de linalool și acetat de linalil, compuși ce au variat cantitativ atât în cadrul varietăților luate în lucru, cât și a unor variante de tratament aplicate.

Diferențele de concentrație a compușilor uleiurilor volatile extrase din materialul vegetal analizat, cultivat în condițiile experimentale prezentate, ar putea fi explicate prin temperaturile mai scăzute înregistrate în perioada de înflorire al plantelor, comparativ cu zonele mediteraneene de origine a speciei și de diferențele de altitudine la care acestea au fost cultivate (41 de m deasupra nivelului mării pentru localitatea Vânători, județul Vrancea), față de altitudinea de cultivare din țările cunoscute ca fiind importante cultivatoare de lavandă și exportatoare de ulei volatil, țări care prezintă altitudini cuprinse între 800 – 1200 m (Hassiotis și colab., 2014; Sousa Silva și colab., 2018).

Concluzii preliminare

Compoziția biochimică a celor 19 probe de ulei volatil extras din tijele florale ale celor 4 varietăți ale speciei *Lavandula angustifolia* Mill. cultivate în 4 variante experimentale s-a dovedit a fi asemănătoare din punct de vedere al numărului de compuși biochimici principali identificați, a căror cantitate a variat considerabil atât în cadrul varietăților, cât și în cadrul variantelor experimentale.

Componentele majoritare comune ale uleiurilor de lavandă testate sunt: linalool, acetat de linalil, trans β - ocimen, D – limonen, terpinen – 4 - ol, acetat de lavandulil, β – cariofilen, cariofilen oxid, 1,8 - cineol (eucaliptol), camfor, borneol și α -terpineol.

Nici una dintre probele de ulei volatil extrase din materialul vegetal avut în lucru, cultivat în condițiile de cultivare date, nu s-a încadrat în totalitate între parametrii de calitate impuși de ediția în vigoare a Farmacopeei Europene (10. 0., 2019).

Rezultatele obținute prin experimentele desfășurate completează datele prezentate de literatura de specialitate referitoare la compoziția uleiurilor volatile de lavandă și sunt semnificative practic în efortul de evaluare a acestor compuși extrași din tijele florale aparținând celor patru varietăți de *Lavandula angustifolia* Mill. cultivate la această oră pe teritoriul țării noastre. În acest sens cercetările au urmărit cultivarea respectivelor varietăți într-un mediu controlat, adăugat experimental cu diferite tipuri de soluții nutritive Hoagland, ca posibilă bază de stabilire a unor tehnici speciale de aprovizionare a plantelor cu elemente nutritive

ce pot susține o biosinteză cantitativă și calitativă de uleiuri volatile adecvată prelucrării lor industriale eficiente în diferite scopuri.

CAPITOLUL 6. EVALUAREA EXPRESIEI UNOR GENE IMPLICATE ÎN SINTEZA ULEIURILOR VOLATILE LA VARIETĂȚI ALE SPECIEI *LAVANDULA ANGUSTIFOLIA* MILL.

Cercetările efectuate în legătură cu biosinteza terpenelor la specii aparținând genului *Lavandula* au condus la caracterizarea a patru monotermen sintaze (limonen, linalol, 1,8-cineol și β -panandren) (Landmann și colab., 2007; Demissie și colab., 2011, 2012) și a patru sesquiterpen sintaze (bergamoten, germacren D, β -cariofilen și τ -cadinol) (Landmann și colab., 2007; Demissie și colab., 2011, 2012; Sarker și colab., 2012, 2013; Jullien și colab., 2014).

Materialul vegetal și izolarea ARN

Țesutul vegetal (reprezentat de frunze și flori) utilizat în analiză a fost recoltat în iunie 2019, la stadiul de înflorire de 50% de la varietățile Codreanca, Provence Blue, Vera și Sevtopolis ce aparțin speciei *L. angustifolia* Mill., și toate variantele experimentale (v. pct. 4. 1. ***Materialul biologic și design-ul experimental***), în ARN Save (Biological Industries, Beit Haemek Ltd, Israel) și depozitat la $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ pentru izolare ulterioară.

Pentru izolarea ARN a fost utilizat kit-ul SV Total RNA Isolation System (Promega Corporation, Madison, Wisconsin, SUA).

Genele de interes

Uleiurile volatile sunt metaboliți secundari importanți, produși în numeroase specii de plante prin două căi naturale complexe (MVA și MEP), ce implică diferite reacții enzimatic.

Sinteza terpenelor (Figura 6. 1.) se desfășoară în ciclul mevalonat (MVA), fiind realizată de terpen-sintaze (TPS) și are ca produs inițial acetil-coenzima-A (acetil CoA). În acest ciclu se sintetizează monoterpene, sesquiterpene, diterpene, triterpene și tetraterpene. În prima etapă a biosintezei terpenelor are loc formarea 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA, din trei molecule de acetil CoA. În cea de a doua etapă, catalizată de hidroximetil-glutaril CoA reductaza, se formează mevalonatul. Prin decarboxilare și fosforilare, din mevalonat rezultă izopentil pirofosfat (IPP), din care se formează geranil pirofosfat (GPP), farnesil pirofosfat (FPP) și geranilgeranil pirofosfat (GGPP). Aceste substanțe reprezintă precursori pentru diferitele terpene. Astfel, din geranil pirofosfat se formează monoterpenele: linalool și limonen. Din farnesil pirofosfat se formează sesquiterpenele și squalenul (Chizzola, 2013; Lange și Ahkami, 2013; Aprotosoae și colab., 2017).

În contextul celor prezentate, cercetările care fac subiectul prezentului capitol al tezei de doctorat și-au propus caracterizarea a cinci gene implicate în sinteza uleiului volatil de lavandă și anume: 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductaza (HMGR) și 1-deoxi-D-xiluloză-5-fosfat sintaza (DXS) care catalizează prima etapă a căii MEP, pentru producerea de constituenți ai uleiului volatil: borneol dehidrogenaza (BDH), enzimă care generează camfor prin oxidarea borneolului, limonen sintaza (LIMS), direct responsabilă pentru biosinteza limonenuului și linalool sintaza (LINS), enzimă care coordonează producerea de linalool, ca gene implicate în

biosinteza terpenelor în patru varietăți diferite de lavandă, *Lavandula angustifolia* Mill.: Provence Blue, Sevtopolis, Vera și Codreanca.

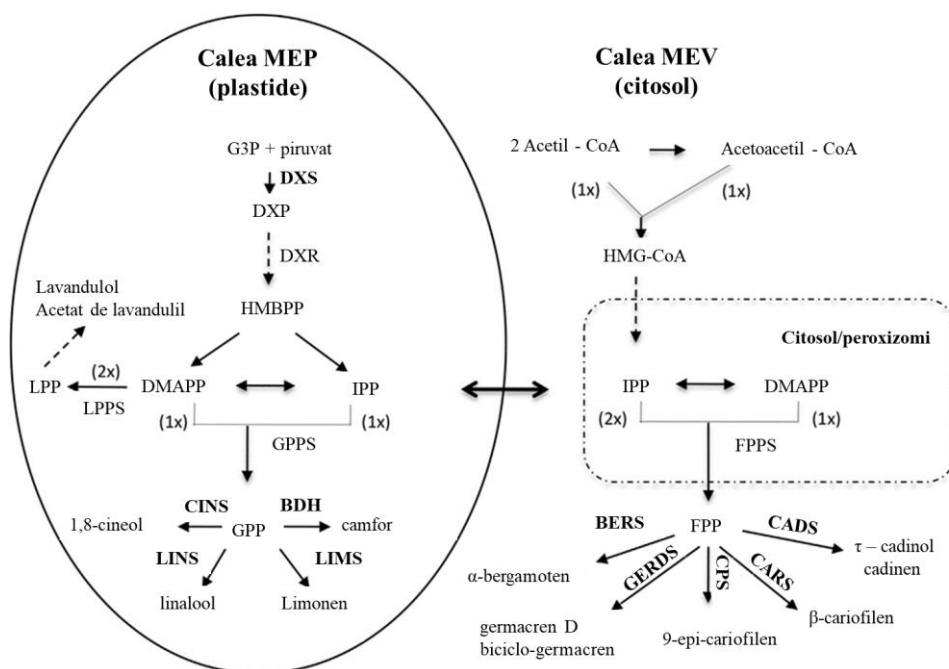


Figura 6. 1. Căile de biosinteză a mono- și sesquiterpenelor în *Lavandula angustifolia* Mill. BERS, α -bergamoten sintaza; CADS, τ -cadinol sintaza; CARS, β -cariofilen sintaza; CINS, 1,8-cineol sintaza; CPS, 9-epi-cariofilen sintaza; DMAPP, dimetilalil pirofosfat; DXP, 1-deoxi-D-xiluloză-5-fosfat; FPP, farnesil pirofosfat; FPPS, FPP sintaza; GERDS, germacren D sintaza; G3P, gliceraldehidă-3-fosfat; GPP, geranil pirofosfat; GPPS, GPP sintaza; HMBPP, 1-hidroxi-2-metil-2 (E) -butenil 4-pirofosfat; IPP, izopentenil pirofosfat; LIMS, limonen sintaza; LINS, linalool sintaza; LPP, lavandulil pirofosfat; LPPS, LPP sintaza; MEP, 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfat; MEV, mevalonat; (Despinasse și colab., 2017) (traducere și adaptare originală)

Tehnica și analiza Real – Time PCR (RT-qPCR)

Tehnica Real-Time PCR cantitativ reprezintă o variantă a tehnicii PCR în care se poate vizualiza în timp real producerea de ampliconi, cu ajutorul unor fluorocromi. Real-time PCR cantitativ permite cunoscerea precisă a produșilor PCR în timpul fazei exponențiale a procesului de amplificare PCR (Wang și colab., 1989).

Cuantificarea cantitativă a ARN

După izolarea ARN a fost realizată o analiză cantitativă și calitativă a acestuia prin citirea spectrofotometrică, cu ajutorul spectrofotometrului Nanodrop 2000 (Nanodrop Technologies).

Realizarea standardelor

Reacția de revers-transcripție

Pentru realizarea standardelor care au fost utilizate pentru cuantificarea absolută a expresiei genelor de interes, a fost utilizat ARN total izolat anterior, din care s-a obținut ADNc prin procesul de revers transcripție, utilizând kit-ul GoScript™ Reverse Transcription Mix + Oligo (dT) (Promega Corporation, Madison, Wisconsin, SUA).

Amplificarea PCR a genelor de interes

ADNc obținut în urma reacției de revers transcripție a fost utilizat pentru amplificarea PCR a genelor de interes în vederea realizării standardelor.

Validarea ampliconilor prin electroforeză în gel de agaroză

La încheierea programului PCR a avut loc verificarea, prin electroforeză în gel de agaroză, a produșilor obținuți.

Purificarea produșilor PCR

Produșii PCR obținuți au fost purificați în coloane, utilizându-se kitul Wizard SV Gel and PCR Clean - Up System (Promega Corporation, Madison, Wisconsin, SUA).

Evaluarea expresiei genice prin metoda RT – qPCR

Cuantificarea absolută a expresiei genelor de interes s-a realizat prin tehnica RT–qPCR, fiind utilizate 6 standarde și diluții normalizate de ARN. Nivelul absolut de expresie al fiecărei gene a fost calculat pentru fiecare variantă experimentală ca o concentrație medie (copii/ reacție) a 6 valori exprimate (trei probe de țesut vegetal/variantă experimentală și 2 replicări RT-qPCR).

Atât procesul de reverstranscripție, cât și amplificarea RT-qPCR au fost efectuate într-o singură etapă folosind kitul GoTaq®1-Step RT-qPCR (Promega Corporation, Madison, Wisconsin, SUA) (Tabel 6. 3.). Pentru amplificare și analiză a fost folosit sistemul de analiză HRM Rotor-Gene 6000 (Corbett Life Science, California, SUA).

Interpretarea și analiza datelor

Rezultatele au fost citite și interpretate ca valori absolute ale expresiei genelor de interes (exprimate ca număr de copii), folosind programul de detecție și analiză Rotor-Gene Q-Pure v2.2.3 (Qiagen, Redwood City, CA, SUA).

Datele experimentale obținute au fost centralizate în tabele, utilizând programul Microsoft Office Excel 2019 (Microsoft Corporation, SUA) și au fost analizate statistic, aplicând analiza de varianță unifactorială (ANOVA), urmată de testul Tukey posthoc pentru analiza detaliată.

Box plot-urile au fost generate folosind software-ul R versiunea 4.2.0 (R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria) și pachetul de analiză R - ggplot2. Toate datele au fost procesate folosind scripturi personalizate R (Kassambara, 2013; Wickham, 2016).

Rezultate

Cercetările de față și-au propus să investigheze dacă prin administrarea la varietățile Codreanca, Provence Blue, Vera și Sevtopolis ale speciei *Lavandula angustifolia* Mill., cultivate în condiții controlate, a unor variante de tratament cu diferite soluții nutritive Hoagland se modifică expresia unor gene (LIMS, LINS, BDH, DXS, HMGR) implicate în biosinteza terpenelor în țesuturile analizate (floare și frunză).

Cuantificarea și normalizarea probelor ARN

În urma prelucrării probelor reprezentate de flori și frunze pentru obținerea unor soluții purificate de ARN, s-au constatat valori ale concentrației, cuprinse între 10,9 – 139,0 ng/μl pentru flori și între 19–181,8ng/μl pentru frunze.

Deoarece probele au prezentat concentrații variabile, cea mai mică valoare fiind 9,8ng/μl, toate probele au fost normalizate la valoarea de 9ng/μl, pentru a elimina erorile de evaluare a expresiei genice, cauzate de fluctuații ale concentrației ARN introdus în reacțiile de amplificare.

Analiza produșilor PCR în urma amplificării

Pentru realizarea standardelor s-a realizat amplificarea probei de ADNc obținut în urma reacției de revers transcriptie și s-a efectuat amplificarea PCR cu ajutorul perechilor de primeri descriși în tabelul 6. 1., iar produșii de amplificare au fost validați prin electroforeză.

Tabel 6. 1. Markerii moleculari utilizați pentru determinarea expresiei genice

Primer	Secvența primerului	Lungime fragment (pb)	Literatură de specialitate
LINS	F-5' -ACACGCACGACAATTTGCCA-3' R-5' -AGCCCTCCAATGAAGTGGGAT-3'	124	(Lane și colab., 2010)
DXS	F-5' -CCAACTCCGTGAAGCAGCAAA-3' R-5' -TTGCCCGCGAATCCTTTCAGA-3'	102	(Lane și colab., 2010)
LIM	F: 5' -GCGCCACACAAGTAGAAATTAAGT-3' R: 5' -TTGCACAGTCAGCTCAGCG-3'	152	(Guitton și colab., 2010)
BDH	F-5' -AATCGGAGCGGCAGCATAATCT-3' R-5' -TAATACGGCGAGACGCAGTTCA-3'	167	(Sarker și colab., 2012)
HMGR	F-5' -TTAACGCCGAGTTCCCAGACA-3' R-5' -TGATTTGCCACGGCCTTCGAT-3'	104	(Lane și colab., 2010)
β - ACT	F-5' -TGTGGATTGCCAAGGCAGAGT-3' R-5' -AATGAGCAGGCAGCAACAGCA-3'	118	(Sarker și colab., 2012)

Discuții

Numeroase studii recente s-au concentrat pe biosinteza și activitățile biologice ale uleiului volatil de lavandă (Landmann și colab., 2007; Zuzarte și colab., 2009; Lane și colab., 2010; Demissie și colab., 2011, 2012; Woronuk și colab., 2011; Sarker și colab., 2012; Lesage-Meessen și colab., 2015; Wells și colab., 2020).

Calea de biosinteză a terpenelor din uleiurile volatile este derivată din doi compuși cu 5 atomi de carbon, izopentenil pirofosfat (IPP) și dimetilalil pirofosfat (DMAPP) generați atât de calea 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfat (MEP), cât și de calea mevalonatului (MVA) (Li și colab., 2021).

În urma consultării literaturii de specialitate, au fost selectate cinci gene active în calea de biosinteză a uleiului volatil, două dintre ele precursori ale căilor de biosinteză MVA (gena HMGR din citosol) și MEP (gena DXS din plastide) și trei gene implicate în biosinteza monoterenelor, respectiv genele responsabile de biosinteza de linalool (LINS), limonen (LIMS) și camfor (BDH), compuși esențiali ai uleiului volatil de lavandă (Guitton și colab., 2010; Lane și colab., 2010; Sarker și colab., 2012).

Gena HMGR (3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductaza)

Enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductaza (HMGR), este o bine cunoscută enzimă cheie responsabilă pentru biosinteza terpenelor în plante. Aceasta catalizează primul pas al biosintezei izoprenoidelor în calea MVA (Diarra și colab., 2013) din citosol.

De asemenea, mult timp s-a presupus că biosinteza terpenelor prin intermediul căilor MEP și MVA sunt independente. Cu toate acestea, studii recente sugerează că există schimburi de metaboliți între cele două căi (Bick și Lange, 2003; Hemmerlin și colab., 2003; Laule și colab., 2003; Schuhr și colab., 2003; Dudareva și colab., 2005; Lane și colab., 2010; Mendoza-Poudereux și colab., 2015).

Rezultatele obținute practic prin cercetările realizate evidențiază că în flori s-au observat cele mai mari valori ale expresiei genice pentru gena HMGR (Figura 6. 2.) la plantele varietății Sevtopolis udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adăție de K (v3) (3.43E+06), variantă urmată de varianta martor (M), aparținând varietății Vera (3.13E+06); cele mai mici valori ale expresiei acestei gene au fost observate la plantele aparținând variantei v2 ale aceleiași varietăți Vera, udate cu soluție nutritivă Hoagland standard (8.53E+04), varietate la care au fost înregistrate, în același timp, îmbunătățiri ale expresiei respectivei gene la majoritatea plantelor aparținând variantelor v3 și v4, udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adăție de K și, respectiv, de P.

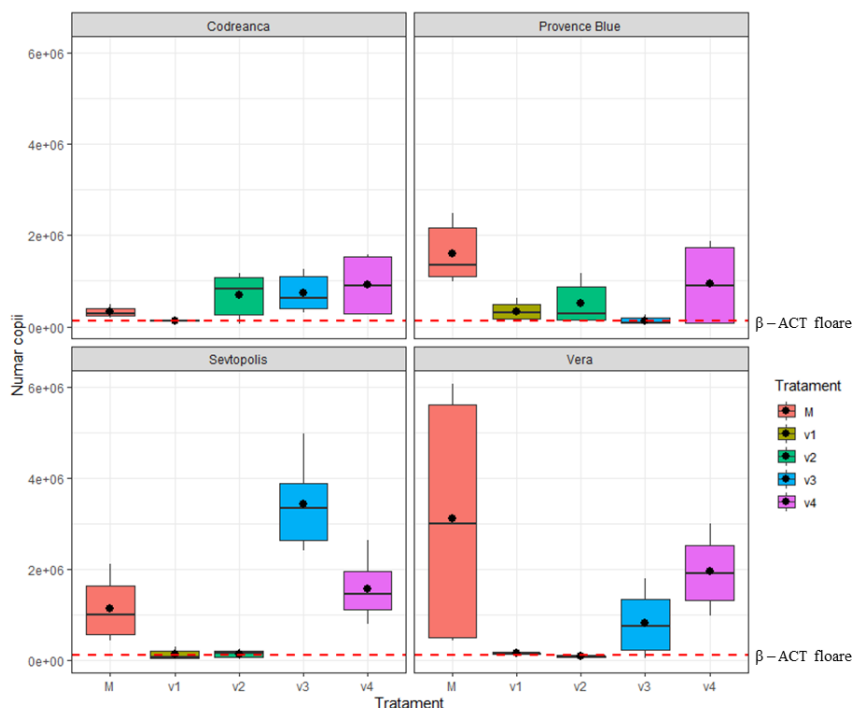


Figura 6. 2. Diagrama boxplot a expresiei genei HMGR la nivelul florilor la toate varietățile și variantele experimentale de lavandă, *Lavandula angustifolia* Mill., raportate la gena de referință β – actină (M – martor; v1 – plante udate cu H₂O; v2 – plante udate cu soluție nutritivă Hoagland standard; v3 – plante udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adăție de K; v4 – plante udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adăție de P). Valorile sunt medii \pm S.E.M. (n=6). Pentru testul Tukey *posthoc*: **M** - Vera vs Codreanca: $p = 0.0225$ (* $p < 0.05$); **v1** – Provence Blue vs Codreanca: $p = 0.0317$ (* $p < 0.05$); Sevtopolis vs Provence Blue: $p = 0.0340$ (* $p < 0.05$); **v2** – Vera vs Codreanca: $p = 0.0365$ (* $p < 0.05$); **v3** – Sevtopolis vs Codreanca: $p = 0.0000033$ (***) $p < 0.001$); Sevtopolis vs Provence Blue: $p = 0.0000002$ (***) $p < 0.001$); Vera vs Sevtopolis: $p = 0.0000056$ (***) $p < 0.001$); **v4** – $F = 1.597$; $p = 0.235$ ($p > 0.05$)

În frunze s-a observat pentru gena HMGR (Figura 6. 3.) cel mai mare număr de copii ARN la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adăție de K (v3) ale varietății Sevtopolis (1.92E+06), urmate de plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adăție de P (v4) ale varietății Provence Blue (1.63E+06), iar cele mai mici valori ale expresiei genice pentru această genă au fost înregistrate la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland standard (v2) ale varietății Vera (1.17E+05).

Comparând rezultatele obținute la toate varietățile și variantele experimentale în legătură cu expresia pentru această genă s-a observat o creștere a valorilor în frunzele plantelor suplimentate cu soluție nutritivă cu adăos de K și, respectiv, de P (v3 și, respectiv, v4).

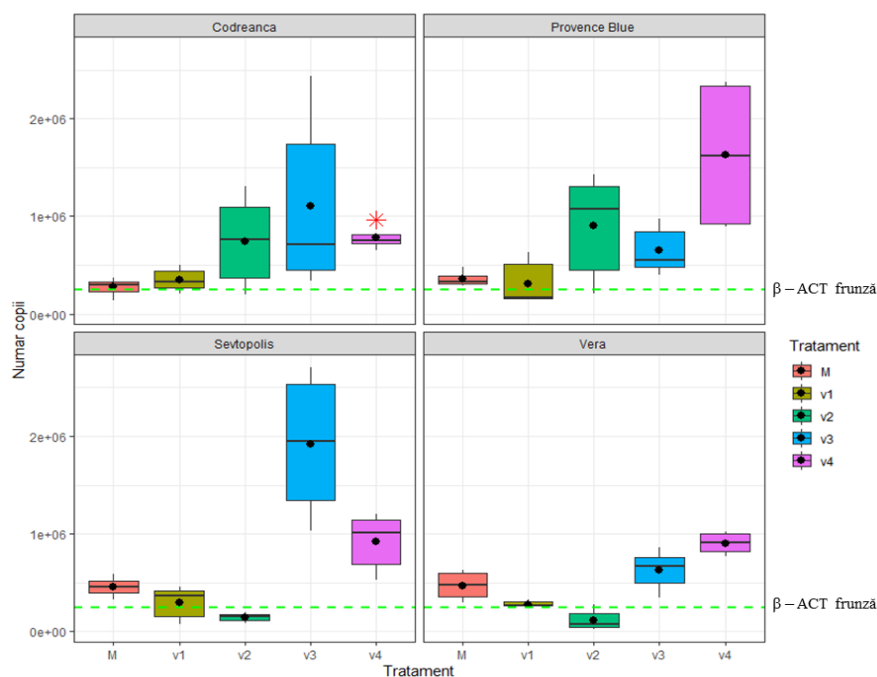


Figura 6. 3. Diagrama boxplot a expresiei genei HMGR la nivelul frunzelor la toate varietățile și variantele experimentale de lavandă, *Lavandula angustifolia* Mill., raportate la gena de referință β – actină (M – martor; v1 – plante udate cu H₂O; v2 – plante udate cu soluție nutritivă Hoagland standard; v3 – plante udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adăție de K; v4 – plante udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adăție de P). Valorile sunt medii \pm S.E.M. (n=6). Pentru testul Tukey *posthoc*: **M** – Sevtopolis vs Codreanca: $p = 0.0296$ (* $p < 0.05$); Vera vs Codreanca: $p = 0.0393$ (* $p < 0.05$); **v1** – F = 0.193; $p = 0.9$ ($p > 0.05$); **v2** - Sevtopolis vs Codreanca: $p = 0.0398$ (* $p < 0.05$); Vera vs Codreanca: $p = 0.0307$ (* $p < 0.05$); Sevtopolis vs Provence Blue: $p = 0.0078$ (** $p < 0.01$); Vera vs Provence Blue: $p = 0.0059$ (** $p < 0.01$); **v3** - Sevtopolis vs Provence Blue: $p = 0.0079$ (** $p < 0.01$); Vera vs Sevtopolis: $p = 0.0070$ (** $p < 0.01$); **v4** – F = 3.284; $p = 0.0525$ ($p > 0.05$)

Genă DXS (1-deoxi-D-xiluloză-5-fosfat sintaza)

Componentele uleiurilor volatile sunt sintetizate de către plante din precursorul universal izoprenoid izopentenil pirofosfat (IPP) și izomerul său cu dublă legătură dimetilalil pirofosfat (DMAPP), prin căile mevalonat (MVA) și 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfat (MEP) (Hemmerlin și colab., 2003; Dudareva și colab., 2005; Guitton și colab., 2010; Lane și colab., 2010; Chizzola, 2013; Mendoza-Poudereux și colab., 2015; Li și colab., 2021).

La nivelul florilor (Figura 6. 4.) nu s-au observat pentru gena DXS (Anexa 11), în urma analizei statistice, modificări semnificative ale expresiei genei, însă cele mai mari valori le-au prezentat plantele udate cu H₂O (v1) ale varietății Vera ($7.39E+05$), urmate de plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adăție de K (v3) ale varietății Sevtopolis ($6.42E+05$), iar cel mai mic număr de copii s-a observat la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland standard (v2) ale varietății Vera ($1.07E+05$).

La nivelul analizat nu s-au observat, pentru gena DXS, influențe semnificative ale tratamentelor aplicate plantelor în vederea creșterii nivelului expresiei genice.

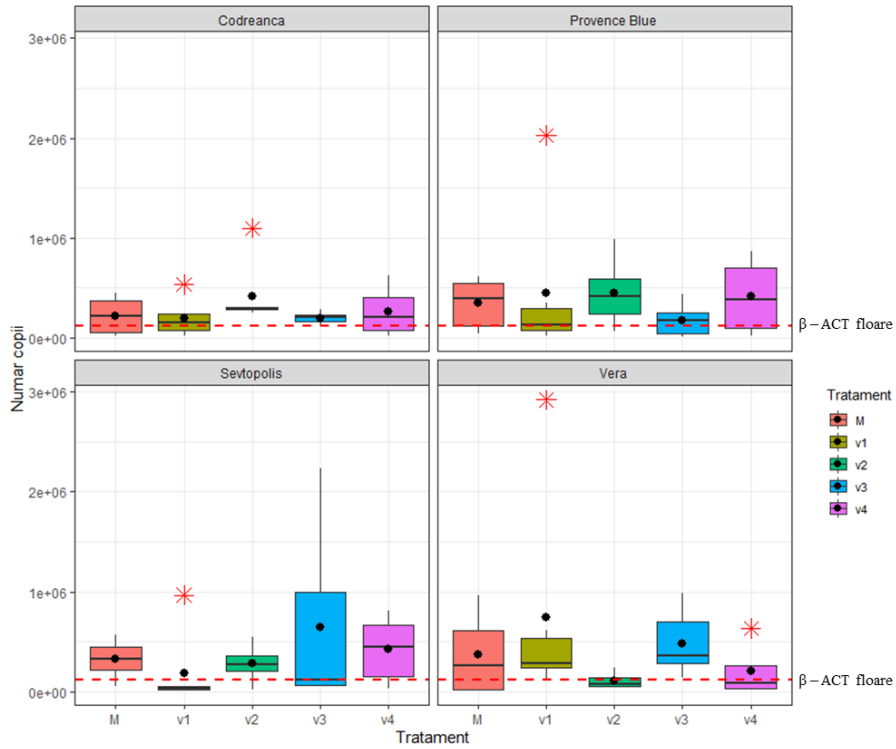


Figura 6. 4. Diagrama boxplot a expresiei genei DXS la nivelul florilor la toate varietățile și variantele experimentale de lavandă, *Lavandula angustifolia* Mill., raportate la gena de referință β – actină (M – martor; v1 – plante udate cu H₂O; v2 – plante udate cu soluție nutritivă Hoagland standard; v3 – plante udate cu soluție nutritivă cu adădire de K; v4 – plante udate cu soluție nutritivă cu adădire de P). Valorile sunt medii \pm S.E.M. (n=6). Pentru testul ANOVA: **M** – F = 0.331; p = 0.803 (p >0.05); **v1** – F = 0.832; p = 0.492 (p >0.05); **v2** – F = 2.329; p = 0.105 (p >0.05); **v3** – F = 1.235; p = 0.323 (p >0.05); **v4** – F = 0.477; p = 0.703 (p >0.05)

La nivelul frunzelor în schimb, pentru gena DXS (Figura 6. 5.) s-au observat modificări semnificative în cazul udării cu soluție nutritivă Hoagland cu adădire de P (v4), respectiv, cu adădire de K (v3).

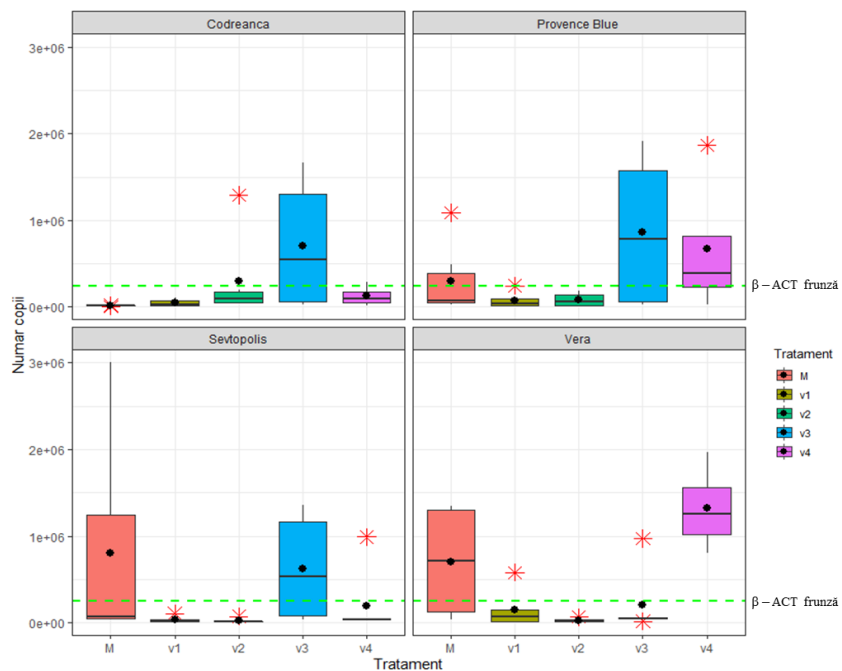


Figura 6. 5. Diagrama boxplot a expresiei genei DXS la nivelul frunzelor la toate varietățile și variantele experimentale de lavandă, *Lavandula angustifolia* Mill., raportate la gena de referință β – actină (M – martor; v1 – plante udate cu H₂O; v2 – plante udate cu soluție nutritivă Hoagland standard; v3 – plante udate cu soluție nutritivă cu adăție de K; v4 – plante udate cu soluție nutritivă cu adăție de P). Valorile sunt medii \pm S.E.M. (n=6). Pentru testul Tukey *posthoc*:: M – F = 1.356; p = 0.288 (p >0.05); v1 – F = 1.065; p = 0.386 (p >0.05); v2 – F = 1.582; p = 0.225 (p >0.05); v3 – F = 1.034; p = 0.399 (p >0.05); v4 – Vera vs Codreanca: p = 0.0219 (* p<0.05); Vera vs Sevtopolis: p = 0.0179 (* p<0.05)

Genă DXS a prezentat o expresie mai scăzută, comparativ cugena HMGR, în toate varietățile și variantele experimentale, dar valorile determinate s-au încadrat în limitele prezentate de studii similare (Landmann și colab., 2007; Lane și colab., 2010; Segura și colab., 2019).

Genă LIMS (limonen sintaza)

Până în prezent au fost caracterizate funcțional numeroase monoterpen sintaze în frunzele și florile de *L. angustifolia*, precum linalool, limonen și bergamoten sintaza (Landmann și colab., 2007), dintre care limonen sintaza (LIMS) catalizează conversia pirofosfatului de geranil în limonen, constituent minor al uleiului de lavandă (Muñoz-Bertomeu și colab., 2008; Tsuru și Asada, 2014).

În urma analizei rezultatelor obținute practic pentru gena implicată în sinteza limonenului (LIMS) s-au observat în flori (Figura 6. 6.) cele mai mari valori ale expresiei genice la plantele udate cu H₂O (v1 - 6.47E+04) și la cele udate cu soluție nutritivă Hoagland standard (v2 - 3.14E+04) aparținând varietății Codreanca.

Pentru restul varietăților, tot la nivelul florilor, valorile cele mai mari ale expresiei au fost întâlnite la plantele udate cu H₂O (v1 - 2.39E+04 la varietatea Provence Blue, 7.33E+03 la varietatea Vera și 1.70E+04 la varietatea Sevtopolis).

În afara varietății Codreanca, udarea cu soluții nutritive Hoagland standard, precum și cu adăție de K și, respectiv de P (variantele v2, v3 și v4) nu au adus îmbunătățiri ale expresie genei LIMS în flori.

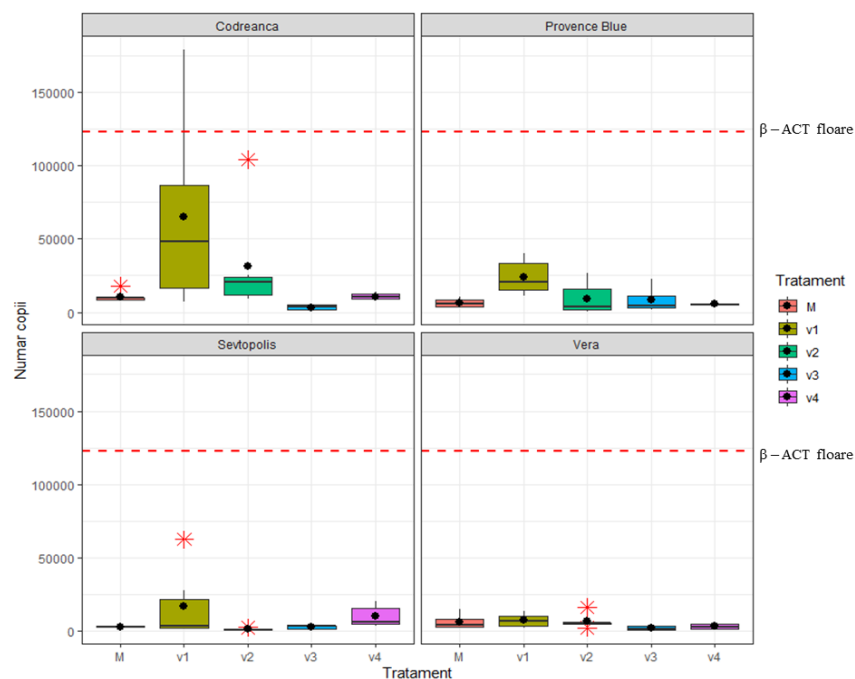


Figura 6. 6. Diagrama boxplot a expresiei genei LIMS la nivelul florilor la toate varietățile și variantele experimentale de lavandă, *Lavandula angustifolia* Mill., raportate la gena de referință β – actină (M – martor; v1 – plante udate cu H₂O; v2

– plante udate cu soluție nutritivă Hoagland standard; v3 – plante udate cu soluție nutritivă cu adăuție de K; v4 – plante udate cu soluție nutritivă cu adăuție de P). Valorile sunt medii \pm S.E.M. (n=6). Pentru testul Tukey *posthoc*: **M** – Sevtopolis vs Codreanca: $p = 0.0123$ (* $p < 0.05$); **v1** – $F = 3.03$; $p = 0.0533$ ($p > 0.05$); **v2** – $F = 2.894$; $p = 0.0607$ ($p > 0.05$); **v3** – $F = 2.412$; $p = 0.0969$ ($p > 0.05$); **v4** – $F = 2.388$; $p = 0.113$ ($p > 0.05$)

Pentru frunze (Figura 6. 7.), rezultatele obținute în urma analizei expresiei genei LIMS au arătat valorile cele mai ridicate ale expresiei la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland standard (v2 - 1.58E+04), urmate de plantele martor (M - 8.78E+03), cultivate în câmp, ale varietății Provence Blue, iar cele mai mici valori ale expresiei acestei gene au fost observate la plantele udate cu H₂O (v1 - 3.06E+02) ale varietății Codreanca.

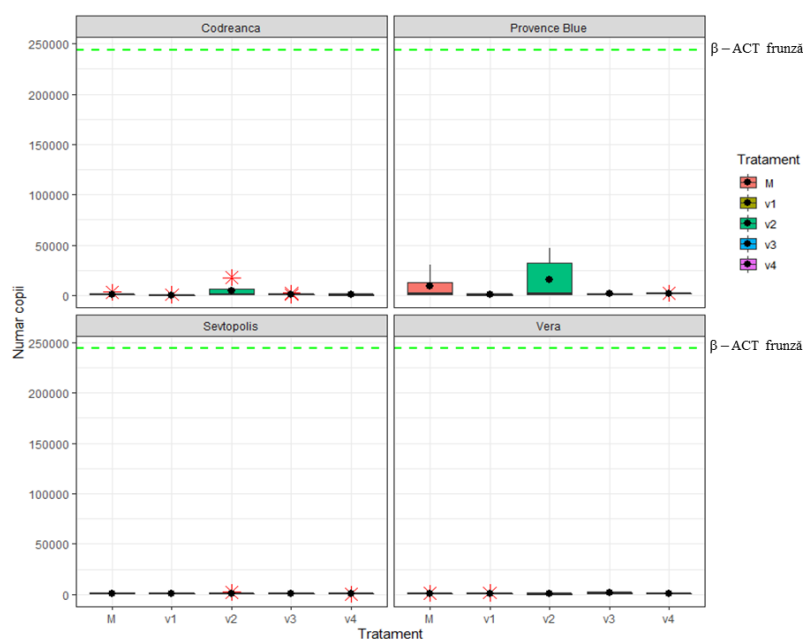


Figura 6. 7. Diagrama boxplot a expresiei genei LIMS la nivelul frunzelor la toate varietățile și variantele experimentale de lavandă, *Lavandula angustifolia* Mill., raportate la gena de referință β – actină (M – martor; v1 – plante udate cu H₂O; v2 – plante udate cu soluție nutritivă Hoagland standard; v3 – plante udate cu soluție nutritivă cu adăuție de K; v4 – plante udate cu soluție nutritivă cu adăuție de P). Valorile sunt medii \pm S.E.M. (n=6). Pentru testul Tukey *posthoc*: **M** – $F = 2.226$; $p = 0.12$ ($p > 0.05$); **v1** – $F = 1.689$; $p = 0.201$ ($p > 0.05$); **v2** – $F = 2.166$; $p = 0.124$ ($p > 0.05$); **v3** – $F = 2.97$; $p = 0.0565$ ($p > 0.05$); **v4** – Sevtopolis vs Provence Blue: $p = 0.0406$ (* $p < 0.05$)

Analizând comparativ expresia genei LIMS la cele patru varietăți, s-a constatat o expresie mai slabă a genei la varietățile Vera și Sevtopolis, comparativ cu varietățile Codreanca și Provence Blue, atât în flori, cât și în frunze. De asemenea, a fost observată supraexpresia genei în flori, comparativ cu frunzele.

Comparativ cu gena de referință, s-a evidențiat că gena LIMS este subexprimată în ambele țesuturi analizate, la toate varietățile și pentru toate variantele de tratament.

Rezultatele obținute practic în cercetările de față sunt în concordanță cu rezultatele comunicate de cercetări similare realizate la diferite specii ale genului *Lavandula* (Landmann și colab., 2007; Muñoz-Bertomeu și colab., 2008; Tsuru și Asada, 2014).

Genul LINS (linalool sintaza)

Linaloolul este sintetizat în plante, ca și alte monoterpene, de către enzima linalool sintaza (LINS) din geranil pirofosfat (GPP), compus generat prin condensarea IPP și DMAPP de către geranil pirofosfat (GPP) sintaza (Segura și colab., 2019).

În urma analizei datelor obținute pentru gena LINS, au fost observate valori mai mari ale expresiei genice în flori (Figura 6. 8.), comparativ cu frunzele (Figura 6. 9.) pentru toate variantele experimentale și varietățile speciei *Lavandula angustifolia* Mill.

Cele mai mari valori ale expresiei genei LINS în flori au fost observate la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adaos de K (v3 - 4.31E+04) ale varietății Sevtopolis, care prezintă un număr de copii de cel puțin 3 ori mai mare, comparativ cu restul probelor analizate, la care valorile înregistrate sunt cuprinse între 6.07E+02 - 1.44E+04. În același timp, cele mai mici valori ale expresiei acestei gene au fost înregistrate la plantele udate cu H₂O (v1 - 6.07E+02), crescute în condiții controlate, ale varietății Codreanca.

Creșteri ale expresiei genice ca urmare a udării cu soluții nutritive Hoagland, comparativ cu plantele martor (M), crescute în câmp au fost observate la varietatea Codreanca, la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland standard (v2), la varietatea Vera la plantele udate cu soluții nutritive Hoagland cu adăuție de K și, respectiv, de P (v3 și v4), precum și la varietatea Sevtopolis la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland cu cantitate dublă de K (v3).

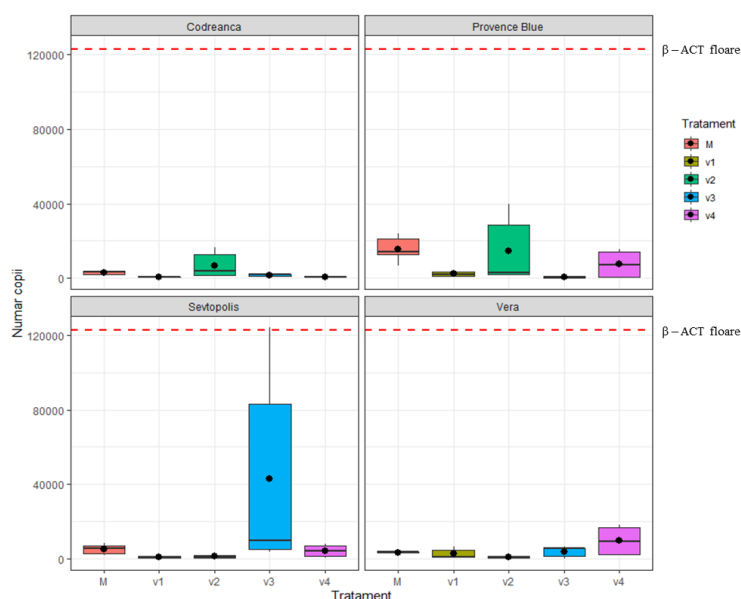


Figura 6. 8. Diagrama boxplot a expresiei genei LINS la nivelul florilor la toate varietățile și variantele experimentale de lavandă, *Lavandula angustifolia* Mill., raportate la gena de referință β – actină (M – martor; v1 – plante udate cu H₂O; v2 – plante udate cu soluție nutritivă Hoagland standard; v3 – plante udate cu soluție nutritivă cu adăuție de K; v4 – plante udate cu soluție nutritivă cu adăuție de P). Valorile sunt medii \pm S.E.M. (n=6). Pentru testul Tukey *posthoc*: M - Provence Blue vs Codreanca: $p = 0.000105$ (***) $p < 0.001$); Sevtopolis vs Provence Blue: $p = 0.000826$ (***) $p < 0.001$); Vera vs Provence Blue: $p = 0.000576$ (***) $p < 0.001$); v1 – F = 2.466; $p = 0.0918$ ($p > 0.05$); v2 – F = 2.405; $p = 0.0975$ ($p > 0.05$); v3 – F = 3.185; $p = 0.0461$ (* $p < 0.05$); v4 – F = 1.82; $p = 0.19$ ($p > 0.05$)

La nivelul frunzei (Figura 6. 9.), în urma amplificării prin RT – qPCR a genei de interes, s-a constatat supraexprimarea genei implicate în sinteza linaloolului (LINS) la toate varietățile, la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adăuție de K și, respectiv, de P (v3 și v4), comparativ cu plantele martor (M).

Cele mai mari valori au fost observate la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adaos de K (v3 - 3.06E+03) ale varietății Provence Blue, iar cele mai mici la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland standard (v2 - 3.20E+02) ale varietății Sevtopolis.

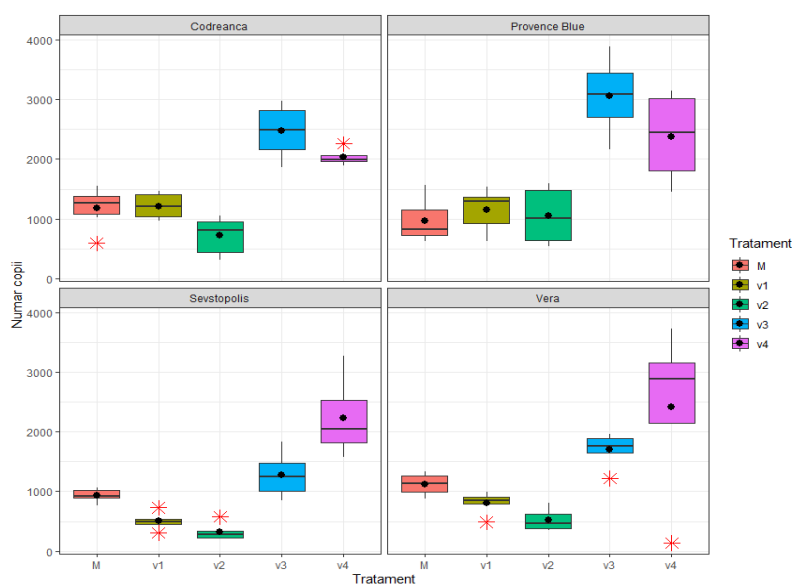


Figura 6. 9. Diagrama boxplot a expresiei genei LINS la nivelul frunzelor la toate varietățile și variantele experimentale de lavandă, *Lavandula angustifolia* Mill.: (M – martor; v1 – plante udate cu H₂O; v2 – plante udate cu soluție nutritivă Hoagland standard; v3 – plante udate cu soluție nutritivă cu adăuție de K; v4 – plante udate cu soluție nutritivă cu adăuție de P). Valorile sunt medii ± S.E.M. (n=6). Pentru testul Tukey *posthoc*: M - F = 1.067; p = 0.388 (p >0.05); v1 – Sevtopolis vs Codreanca: p = 0.000252 (***) p<0.001); Vera vs Codreanca: p = 0.0384 (* p<0.05); Sevtopolis vs Provence Blue: p = 0.000672 (***) p<0.001); v2 – Sevtopolis vs Provence Blue: p = 0.0028 (** p<0.01); Vera vs Provence Blue: p = 0.0354 (* p<0.05); v3 – Sevtopolis vs Codreanca: p = 0.00090 (***) p<0.001); Vera vs Codreanca: p = 0.0364 (* p<0.05); Sevtopolis vs Provence Blue: p = 0.0000062 (***) p<0.001); Vera vs Provence Blue: p = 0.000224 (***) p<0.001); v4 – F = 0.146; p = 0.931 (p >0.05)

Raportată la gena de referință, gena LINS a fost subexprimată atât în flori, cât și în frunze, la toate varietățile și variantele experimentale.

Gena BDH (borneol dehidrogenaza)

La fel ca și în cazul altor terpen sintaze la aceste plante, nivelul expresiei genei BDH este mai ridicat la nivelul florilor comparativ cu frunzele pentru toate variantele experimentale și varietățile speciei *Lavandula angustifolia* luate avute în atenție.

În flori (Figura 6. 10.), cele mai mari valori ale expresiei acestei gene s-au determinat la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adăuție de P (v4 - 2.94E+03) ale varietății Codreanca, urmate de plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adăuție de K (v3 - 2.29E+03) ale varietății Provence Blue, iar valorile cele mai mici au fost obținute la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland standard (v2 - 2.62E+02) ale varietății Sevtopolis. De asemenea, s-a observat că și pentru varietățile Provence Blue și Vera cele mai mici valori în cadrul variantelor experimentale s-au înregistrat tot la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland standard (v2).

Ca urmare a administrării soluțiilor nutritive Hoagland au fost înregistrate, în cazul majorității varietăților, creșteri ale expresiei genice pentru gena BDH la plantele udate cu soluție nutritivă cu adăuție de K și, respectiv de P (v3 și v4).

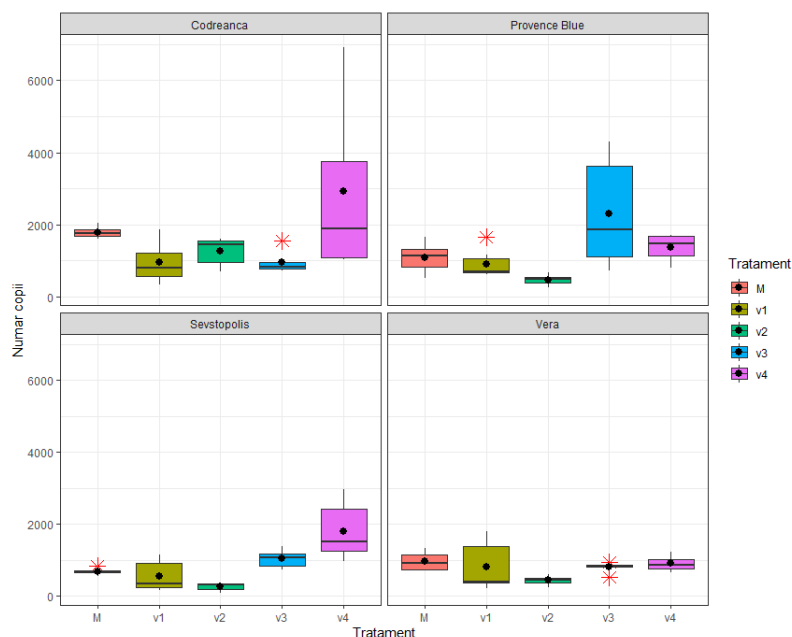


Figura 6. 10. Diagrama boxplot a expresiei genei BDH la nivelul florilor la toate varietățile și variantele experimentale de lavandă, *Lavandula angustifolia* Mill.: (M – martor; v1 – plante udate cu H₂O; v2 – plante udate cu soluție nutritivă Hoagland standard; v3 – plante udate cu soluție nutritivă cu adăuție de K; v4 – plante udate cu soluție nutritivă cu adăuție de P). Valorile sunt medii ± S.E.M. (n=6). Pentru testul Tukey *posthoc*: **M** – Provence Blue vs Codreanca: p = 0.00146 (** p<0.01); Sevtopolis vs Codreanca: p = 0.0000071 (***) p<0.001); Vera vs Codreanca: p = 0.00101 (** p<0.01); **v1** – F = 0.6; p = 0.622 (p >0.05); **v2** – Provence Blue vs Codreanca: p = 0.0000502 (***) p<0.001); Sevtopolis vs Codreanca: p = 0.0000022 (***) p<0.001); Vera vs Codreanca: p = 0.0000332 (***) p<0.001); **v3** – Provence Blue vs Codreanca: p = 0.0434 (* p<0.05); Vera vs Provence Blue: p = 0.0231 (* p<0.05); **v4** – F = 1.569; p = 0.241 (p >0.05)

În frunze (Figura 6. 11.) valorile cele mai mari ale expresiei au fost observate la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland standard (v2 - 5.13E+02) aparținând varietății Codreanca, iar cele mai mici valori au fost observate la plantele martor (M - 7.70E+01) ale varietății Sevtopolis.

În cazul varietăților Provence Blue, Vera și Sevtopolis au fost înregistrate niveluri scăzute ale expresiei genei BDH la plantele martor (M), crescute în câmp, iar pentru varietatea Codreanca, valorile cele mai mici au fost observate la plantele udate cu H₂O (v1).

De asemenea, în urma aplicării tratamentelor cu soluție nutritivă Hoagland standard și cu adăuție de K și, respectiv de P (v2, v3 și v4) s-a constatat o creștere a expresiei genei BDH la toate varietățile analizate, comparativ cu lotul control (M).

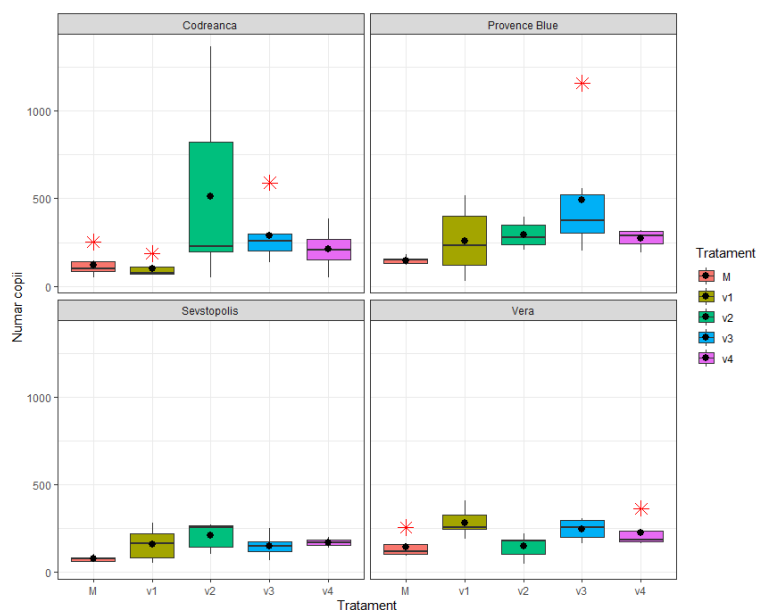


Figura 6. 11. Diagrama boxplot a expresiei genei BDH la nivelul frunzelor la toate varietățile și variantele experimentale de lavandă, *Lavandula angustifolia* Mill.: (M – martor; v1 – plante udate cu H₂O; v2 – plante udate cu soluție nutritivă Hoagland standard; v3 – plante udate cu soluție nutritivă cu adădire de K; v4 – plante udate cu soluție nutritivă cu adădire de P). Valorile sunt medii ± S.E.M. (n=6). Pentru testul Tukey *posthoc*: M – F = 2.336; p = 0.108 (p > 0.05); v1 – F = 3.228; p = 0.0443 (* p < 0.05); v2 – F = 1.935; p = 0.156 (p > 0.05); v3 – Sevtopolis vs Provence Blue: p = 0.0319 (* p < 0.05); v4 – F = 1.205; p = 0.344 (p > 0.05)

Comparativ cu gena de referință, se constată că gena BDH este subexprimată în toate țesuturile și pentru toate variantele de tratament.

În flori, linalool sintaza (LINS) și limonen sintaza (LIMS) au fost exprimate la niveluri mai ridicate, în timp ce expresia genei borneol dehidrogenaza (BDH) a fost redusă. Toate genele testate au fost slab exprimate la nivelul frunzelor, fapt ce sugerează că aceste țesuturi au un aport minor în compoziția biochimică a uleiului volatil, date susținute și de alte cercetări similare (Landmann și colab., 2007; Ashour și colab., 2010; Chen și colab., 2011; Sarker și colab., 2012)

Concluzii preliminare

Toate cele cinci gene testate, implicate în biosinteza terpenelor au fost exprimate în ambele tipuri de țesut vegetal analizat (floare și frunză).

Expresia celor cinci gene a fost mai puternic exprimată în flori, decât în frunze, pentru majoritatea varietăților și variantelor experimentale.

Pentru gena HMGR, implicată în calea de sinteză MVA din citosol, au fost observate creșteri ale expresiei în frunze în urma udării plantelor cu soluții nutritive Hoagland cu adădire de K și, respectiv, de P (v3 și v4) la toate varietățile studiate.

Gena HMGR a fost cel mai puternic exprimată, comparativ cu restul genelor analizate, valorile cele mai mari fiind observate în flori.

În cazul genei DXS, prima enzimă implicată în calea MEP din plastide, a fost constată o creștere a expresiei în frunze la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adădire de K (v3) ale varietăților Codreanca

și Provence Blue și la plantele suplimentate cu soluție nutritivă Hoagland cu adădire de P (v4) ale varietăților Provence Blue și Vera.

Gena LIMS, implicată în calea de biosinteză a limonenului, a fost puternic exprimată în flori la plantele udate cu H₂O (v1), pentru toate varietățile studiate.

Pentru gena implicată în sinteza linaloolului (LINS) s-a constatat faptul că aplicarea de soluție nutritivă Hoagland cu adădire de K (v3) și de P (v4) a influențat pozitiv expresia genei în frunze pentru toate varietățile speciei *Lavandula angustifolia* analizate.

Gena BDH, care în urma oxigenării borneolului sintetizează camfor, a avut o expresie scăzută în ambele tipuri de țesut, însă valorile cele mai mici au fost înregistrate în frunze.

CAPITOLUL 7. DISCUȚII GENERALE

Pentru speciile genului *Lavandula* florile și frunzele constituie sursele cheie ale biosintezei terpenelor, între care monoterpenele reprezintă compușii majoritari, alături de sesquiterpene, sintetizate într-o cantitate mult mai mică, în funcție de stadiile de dezvoltare ale plantelor (Boeckelmann, 2008).

Cercetările care fac obiectul prezentei teze, realizate pe un material biologic reprezentat de patru varietăți ale speciei *Lavandula angustifolia* Mill. cultivate în spațiu protejat (solar) și în spațiu liber, au urmărit:

(1) să stabilească dacă regimul de cultivare a plantelor test (condiții specifice de creștere, regim hidric de udare cu soluții nutritive Hoagland de compoziții diferite) influențează evident producția de ulei volatil a acestora, exprimată prin parametri cantitativi și calitativi specifici și (2) să evidențieze existența unei posibile corelații între compoziția biochimică a uleiului volatil și expresia anumitor gene implicate în biosinteza terpenelor.

Uleiurile volatile la lavandă sunt produse de către perii secretori glandulari specializați ce acoperă frunzele, tulpinile și se găsesc din abundență pe suprafața caliciului florilor. În funcție de numărul de celule din care este alcătuită glanda secretoare, perii secretori glandulari identificați la taxonii de lavandă aparțin la două tipuri: capitați și peltați (Huang și colab., 2008; Zuzarte și colab., 2010; Ștefan și colab., 2021).

Analiza micrograțiilor organelor vegetative (frunze) obținute la microscopul electronic cu baleiaj (SEM) au evidențiat creșterea densității perilor secretori la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adădire de K și P (v3 și v4) pentru toate varietățile de *Lavandula angustifolia* luate în studiu.

Conform datelor existente în literatura de specialitate, calitatea uleiului volatil poate fi corelată cu proporția constituenților săi, care variază în funcție de varietate, varianta de tratament aplicată plantelor și de condițiile de mediu în care au crescut (Angioni și colab. 2006; Woronuk și colab. 2011; Dudareva și colab. 2013; Carvalho și colab. 2016). În acest context, analizând condițiile specifice localității Vânători din județul Vrancea, zona de cultivare al plantelor test analizate în prezenta lucrare, precizăm că aceasta este o regiune destul de nouă pentru cultivarea lavandei, caracterizată printr-un climat temperat cu veri calde, secetoase și ierni reci. Având în vedere aceste condiții de mediu, am urmărit să identificăm prin cercetările efectuate eventuala prezență a unor caracteristici individuale ale uleiurilor volatile produse de cele patru varietăți de lavandă testate în variantele de tratament avute în atenție. În acest sens, analiza biochimică a acestora a evidențiat faptul că procentajul unor compuși esențiali ai uleiului volatil (linaloolul, acetatul de linalil,

lavandulolul) în plantele cultivate în localitatea Vânători diferă ușor de intervalul optim de concentrație stabilit de ISO (*L. angustifolia* ISO 3515) și de Farmacopeea Europeană.

În cercetările realizate, linalolul și acetatul de linalil, cei doi compuși majori detectați în toate probele de uleiuri volatile extrase din inflorescențele celor patru variante de *L. angustifolia* analizate au prezentat concentrații cuprinse între 12,1 – 40,7 % și respectiv 10,7 – 34,5 %. Aceștia au fost urmați de compuși minori precum α -terpineol (1,1 – 5,3%), terpinen-4-ol (0,5 – 6%), β -ocimen (0,2 – 6%), camfor (0,1 – 1,4%), borneol (0,8 – 5,1%), eucaliptol (0,3 – 6,7%), acetat de lavandulil (2,3 – 8,1%), limonen (0 – 1,5%) și acetat de geranil (0,2 – 3,1%).

Producția terpenelor și, ca urmare, compoziția uleiurilor volatile sunt afectate și la nivelul transcripției genelor implicate în biosinteza terpenelor și variază în timpul diferitelor stadii de dezvoltare ale plantelor (Lane și colab., 2010). Pentru a studia efectul expresiei genelor asupra compoziției uleiului de lavandă a fost explorată expresia a două gene ce dau startul căilor de sinteză: MVA (3-Hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductaza - HMGR) și MEP (1-deoxi-D-xiluloză-5-fosfat sintaza - DXS) din citosol și, respectiv, din plastide și trei gene implicate în biosinteza monoterpenelor în diferite țesuturi de lavandă, fiind urmărită monitorizată în special expresia genică a linalool sintazei (LINS), limonen sintazei (LIMS) și borneol dehidrogenazei (BDH) în frunze și inflorescențe, folosind PCR cantitativ în timp real.

Gena HMGR, a fost cea mai bine exprimată genă, cu valori mari atât în flori, cât și în frunze, urmată, ca abundență în țesuturi, de gena DXS, care a prezentat valori mai mari la nivelul florilor, comparativ cu frunzele.

În ciuda compartimentării subcelulare a căilor de biosinteză MEP și MEV, studii recente sugerează că există un schimb de metaboliți între cele două căi, ce au ca și compuși intermediari comuni izopentenil pirofosfat (IPP) și dimetilalil pirofosfat (DMAPP) și, astfel, datorită comunicării dintre ele, genele DXS și HMGR participă, amândouă, într-o oarecare măsură, la biosinteza monoterpenelor și sesquiterpenelor, deci există o legătură între expresia acestor gene (DXS și HMGR) și cantitatea de monoterpenă și sesquiterpenă identificate în urma analizei uleiului volatil (Dudareva și colab., 2013; Mendoza-Poudereux și colab., 2015; Henry și colab., 2018).

Rezultatele obținute practic pe parcursul realizării prezentei teze au arătat că în cazul celor trei gene testate, implicate în biosinteza monoterpenelor (LINS - linalool sintaza, LIMS - limonen sintaza și BDH - borneol dehidrogenaza), linalool sintaza și limonen sintaza au fost exprimate în materialul vegetal avut în lucru (variantele de lavandă selectate, în variante de tratament aplicate) la niveluri ridicate în special în flori, în timp ce expresia genei borneol dehidrogenaza a fost redusă.

În același timp, experimentele realizate au urmărit să testeze dacă expresia genei linalool sintază a fost corelată cu conținutul de linalool din uleiul de lavandă, observându-se că aceasta a fost exprimată în țesuturile aparținând ambelor tipuri de organe analizate (flori și frunze). S-a observat, de asemenea, că expresia genei LINS a fost detectată în abundență mai mare în flori și în cantitate mult mai mică în frunze, fapt ce sugerează că pentru a obține ulei esențial de lavandă de înaltă calitate ar trebui recoltate numai tije florale.

Rezultatele cercetărilor astfel derulate sunt în acord cu datele prezentate de literatura de specialitate, conform cărora expresia genei LINS a predominat în flori (Demissie și colab., 2011), iar acumularea de linalool în *L. angustifolia* a fost direct corelată cu nivelurile de transcriere pentru aceasta (Lane și colab., 2010).

Investigații anterioare au sugerat că enzima limonen sintaza (LIMS) de la taxonii genului *Lavandula* este responsabilă, pe lângă producerea de limonen și pentru sinteza mai multor compuși monoterpenici minoritari (terpinolen, α - pinen, camfen) (Dudareva și colab., 2004; Landmann și colab., 2007; Muñoz-Bertomeu și colab., 2008).

La speciile genului *Lavandula* biosinteza camforului, ca și a altor compuși ai uleiurilor volatile extrase din aceste plante, are loc la nivelul perilor secretori glandulari, printr-o serie de reacții biochimice. Ca și alte monoterpene, camforul este derivat din izopentenil pirofosfat (IPP) și dimetilalil pirofosfat (DMAPP), precursorii universali ai tuturor terpenelor, iar prin oxidarea borneolului va fi generat camfor, datorită activității catalitice a borneol dehidrogenazei (BDH) (Sarker și colab., 2012; Dudareva și colab., 2013; Despinasse și colab., 2017; Li și colab., 2021).

Cercetările întreprinse practic pe materialul vegetal avut în atenție au condus la observația că borneolul și camforul au avut o abundență diferită atât în frunzele, cât și în florile varietăților și variantelor experimentale de *L. angustifolia* luate în lucru. Florile au prezentat acest compus în concentrații mai mari, comparativ cu frunzele, dar la nivel global a fost cea mai slab exprimată genă din cele avute în vedere.

CONCLUZII GENERALE

Rezultatele obținute în prezenta teză de doctorat se bazează pe cercetări originale, care au avut ca obiective principale evidențierea și discutarea unor caracteristici histo-anatomice și micromorfologice ale organelor vegetative (rădăcini, tulpini și frunze) la taxoni ai genului *Lavandula* L. cultivați în România, precum și determinarea compoziției uleiurilor volatile produse de organele vegetative și generative (tije florale) și a expresiei genice a cinci gene implicate în procesul de biosinteză a terpenelor la patru varietăți de *Lavandula angustifolia* Mill. suplimentate cu soluții nutritive Hoagland de compoziții diferite și cultivate în condiții experimentale specifice.

Concluziile rezultate în urma cercetărilor derulate pot fi sumarizate astfel:

➤ **Din punct de vedere histo-anatomic:**

Compararea structurii organelor vegetative la șase taxoni ai genului *Lavandula* (*L. angustifolia* Ellagance Pink, *L. angustifolia* Ellagance Purple, *L. angustifolia* Ellagance Snow, *L. angustifolia* Munstead, *L. angustifolia* Vicenza Blue, *Lavandula x intermedia* Grosso) a permis evidențierea următoarelor aspecte:

- nu există diferențe semnificative din punct de vedere structural între taxonii analizați;
- la nivelul tulpinii se observă, la plantele aparținând taxonilor din grupul Ellagance, tendința de exfoliere a epidermei, respectivul organ pierzând conturul pătratic specific genului;
- toți taxonii prezintă pe suprafața tulpinii numeroși peri protectori ramificați arborescent și numeroși peri secretori cu glanda bi-, tetra- sau octocelulară, caractere specifice genului *Lavandula*;

Analiza rezultatelor de ordin anatomic la variantele experimentale ale celor patru varietăți de *Lavandula angustifolia* Mill. avute în atenție (Codreanca, Provence Blue, Vera și Sevtopolis) udate pe parcursul cultivării cu H₂O (v1) și suplimentate cu soluție nutritivă Hoagland standard (v2) au evidențiat următoarele aspecte de ordin structural :

- structurile histologice identificate sunt circumscrise planului structural tipic al genului;

- la nivelul tulpinii apar diferențe de structură (variația conturului secțiunii, absența periciclului la plantele udate cu H₂O - varianta v1 aparținând varietăților Codreanca și Sevtopolis) și diferențe legate de conturul zonei centrale, ocupată de măduvă (pătratică, hexagonală sau romboidală);
- la nivelul limbului foliar se observă variații ale conturului secțiunii, ale numărului de fascicule libero-lemnoase din nervurile laterale și ale numărului de formațiuni epidermice (peri protectori și secretori).

➤ **Din punct de vedere micromorfologic:**

Analiza comparativă a densității perilor protectori și secretori la șase taxoni ai genului *Lavandula* analizați (*L. angustifolia* Ellagance Pink, *L. angustifolia* Ellagance Purple, *L. angustifolia* Ellagance Snow, *L. angustifolia* Munstead, *L. angustifolia* Vicenza Blue, *Lavandula x intermedia* Grosso) a evidențiat următoarele:

- manifestarea unei variații intra- și interspecifice a frecvenței acestor formațiuni epidermice;
- absența perilor secretori peltați pe suprafața superioară a epidermei limbului foliar la *Lavandula x intermedia* Grosso;
- perii secretori capitați reprezintă tipul dominant de peri, mult mai abundenți pe epiderma inferioară a limbului foliar al tuturor taxonilor analizați;
- perii protectori sunt formațiunile dominante pe suprafața ambelor epiderme ale limbului foliar la toate speciile și varietățile analizate, aceștia fiind mult mai abundenți pe epiderma feței inferioare a limbului.

Analiza comparativă din punct de vedere numeric a perilor protectori și secretori la cele patru varietăți de *Lavandula angustifolia* Mill. (Codreanca, Provence Blue, Vera și Sevtopolis), funcție de varianta de udare cu soluție nutritivă Hoagland aplicată, a evidențiat următoarele:

- aspectul perilor variază la taxonii analizați, identificându-se două tipuri de peri secretori: capitați și peltați și două tipuri de peri protectori: ramificați și neramificați;
- densitatea perilor secretori și protectori a crescut la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adădire de K și, respectiv, de P (v3 și v4) pentru toate varietățile de lavandă luate în lucru;
- perii protectori prezintă o frecvență mai mare, comparativ cu perii secretori, pe ambele epiderme ale limbului foliar, la toți taxonii analizați,.

➤ **Referitor la producția și analiza biochimică a uleiurilor volatile:**

Analiza cantitativă și calitativă a uleiurilor volatile obținute prin hidrodistilarea tijelor florifere uscate aparținând la patru varietăți de *Lavandula angustifolia* Mill. (Codreanca, Provence Blue, Vera și Sevtopolis) udate cu diferite tipuri de soluție nutritivă Hoagland a evidențiat următoarele:

- cantitatea de ulei volatil obținut din materialul biologic supus hidrodistilării a prezentat variații cantitative și calitative, funcție de variantele de lavandă și de varietățile experimentale analizate;
- cel mai ridicat randament de extracție a fost obținut la varietatea Provence Blue cultivată în câmp și udată cu H₂O (M), care a prezentat un randament de extracție de 5,11 %;
- uleiul volatil de *Lavandula angustifolia* Mill. extras a prezentat variații calitative atât în cadrul varietăților, cât și în funcție de tratamentul cu soluție nutritivă Hoagland aplicat (variantele de lucru);
- componentele majoritare comune ale uleiurilor de lavandă extrase sunt: linalool (12,1 – 40,7%), acetat de linalil (10,7 – 34,5%), β – ocimen (0,2 – 6%), D – limonen (0 – 1,5%), terpinen-4-ol (0,5 – 6%),

acetat de lavandulil (2,3 – 8,1%), α -terpineol (1,1 – 5,3%), β -cariofilen (0 – 4,8%), cariofilen oxid (0 – 14,8%), eucaliptol (0,3 – 6,7%), camfor (0,1 – 1,4%) și borneol (0,8 – 5,1%);

- nici una dintre probele de ulei volatil extrase din tijele florale de lavandă prelucrate nu s-a încadrat în totalitate în parametrii de calitate impuși de ediția în vigoare a Farmacopeii Europene și a standardelor ISO.

➤ **Referitor la expresia unor gene implicate în sinteza uleiurilor volatile:**

Analiza expresiei a cinci gene (LIMS, LINS, BDH, DXS, HMGR) implicate în biosinteza terpenelor în flori și frunze la patru varietăți de *Lavandula angustifolia* Mill. (Codreanca, Provence Blue, Vera și Sevtopolis) cultivate în condiții experimentale și suplimentate cu soluții nutritive Hoagland de compoziții diferite a evidențiat următoarele:

- toate cele cinci gene testate au fost exprimate în ambele tipuri de țesut vegetal analizat (flori și frunze), prezentând o expresie mai puternică în flori, comparativ cu frunzele, pentru majoritatea varietăților și variantelor experimentale avute în atenție;
- raportarea rezultatelor obținute în urma analizei expresiei genice la gena de referință (β – actina) a evidențiat o supra expresie a genelor HMGR și DXS și o expresie redusă a genelor LIMS, LINS și BDH în ambele tipuri de țesut analizat (flori și frunze); gena HMGR a fost cea mai puternic exprimată genă, valorile cele mai mari fiind observate în flori;
- în urma tratamentelor aplicate plantelor de *Lavandula angustifolia* Mill. s-a constatat creșterea expresiei genelor HMGR, DXS și LINS la plantele udate cu soluție nutritivă Hoagland cu adădire de K și, respectiv, de P (v3 și v4) pentru toate varietățile de lavandă analizate;
- gena LIMS a fost puternic exprimată în flori la plantele udate cu H₂O (v1) aparținând tuturor varietăților analizate;
- gena BDH, responsabilă de sinteza camforului, a fost cea mai slab exprimată genă în ambele tipuri de țesut analizat, cele mai mici valori fiind înregistrate în frunze.

Lucrarea de față, prin tematica abordată, aparține unui domeniu de cercetare fundamental aplicativă, care a urmărit identificarea și investigarea interrelațiilor ce se pot stabili între condițiile de cultivare, modificările morfo-anatomice, expresia genică a anumitor gene implicate în biosinteza uleiurilor volatile și compoziția acestora la taxoni ai genului *Lavandula* L. cultivați în România.

Bazată pe o abordare interdisciplinară, integrativă, a trei direcții specifice domeniului biologie vegetală (anatomie, biochimie și genetică vegetală), lucrarea aduce argumente suplimentare privind importanța condițiilor de cultivare a plantelor de lavandă în condiții protejate și neprotejate, evidențiind efectul suplimentării acestora cu soluții nutritive Hoagland de compoziții diferite asupra cantității și profilului biochimic al uleiurilor volatile, modalitatea de abordare practică a subiectului și de corelare a rezultatelor cercetării fiind autentice și de strictă noutate pentru domeniul abordat.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- Abràmoff, M.D., Magalhães, P.J., Ram, S.J., 2004. *Image processing with ImageJ*. Biophotonics international 11, 36–42.
- Adaszyńska-Skwirzyńska, M., Śmist, M., Swarcewicz, M., 2013. *Comparison of extraction methods for the determination of essential oil content and composition of lavender leaves*. Nat Prod Res 27, 1497–1501.
- Aprotosoae, A.C., Gille, E., Trifan, A., Luca, V.S., Miron, A., 2017. *Essential oils of Lavandula genus: a systematic review of their chemistry*. Phytochemistry Reviews 16, 761–799.
- Arabaci, O., Bayram, E., 2004. *The effect of nitrogen fertilization and different plant densities on some agronomic and technologic characteristic of Ocimum basilicum L.(Basil)*. Journal of Agronomy.
- Ashour, M., Wink, M., Gershenzon, J., 2010. *Biochemistry of terpenoids: monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes*. Annual plant reviews volume 40: biochemistry of plant secondary metabolism 258–303.
- Baranauskienė, R., Venskutonis, P.R., Viškelis, P., Dambrauskienė, E., 2003. *Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (Thymus vulgaris)*. Journal of Agricultural and Food chemistry 51, 7751–7758.
- Basch, E., Foppa, I., Liebowitz, R., Nelson, J., Smith, M., Sollars, D., Ulbricht, C., 2004. *Lavender (Lavandula angustifolia Miller)*. J Herb Pharmacother 4, 63–78.
- Bick, J.A., Lange, B.M., 2003. *Metabolic cross talk between cytosolic and plastidial pathways of isoprenoid biosynthesis: unidirectional transport of intermediates across the chloroplast envelope membrane*. Arch Biochem Biophys 415, 146–154.
- Biesiada, A., Sokol-Letowska, A., Kucharska, A., 2008. *The effect of nitrogen fertilization on yielding and antioxidant activity of lavender (Lavandula angustifolia Mill.)*. Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus 2.
- Blažeković, B., Yang, W., Wang, Y., Li, C., Kindl, M., Pepeljnjak, S., Vladimir-Knežević, S., 2018. *Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils of Lavandula × intermedia 'Budrovka' and L. angustifolia cultivated in Croatia*. Ind Crops Prod 123, 173–182.
- Boeckelmann, A., 2008. *Monoterpene production and regulation in Lavenders (Lavandula angustifolia and Lavandula x intermedia)* (Doctoral dissertation, University of British Columbia).
- Boz, I., Burzo, I., Zamfirache, M.-M., Toma, C., Padurariu, C., 2009. *Glandular trichomes and essential oil composition of Thymus pannonicus All.(Lamiaceae)*. An. Univ. Oradea. Fasc. Biol 16, 36–39.
- Bozzola, J.J., Russell, L.D., 1999. *Electron microscopy: principles and techniques for biologists*. Jones & Bartlett Learning.
- Brailko, V., Mitrofanova, O., Lesnikova-Sedoshenko, N., Chelombit, S., Mitrofanova, I., 2017. *Anatomy features of Lavandula angustifolia Mill. and Lavandula hybrida Rev. plants in vitro*. The Journal “Agriculture and Forestry” 63. <https://doi.org/10.17707/agricultforest.63.1.13>
- Burzo, I., Toma, C., 2013. *Țesuturile secretoare și substanțele volatile din plante*. Editura Universității Alexandru Ioan Cuza.
- Camen, D., Hadaruga, N., Luca, R., Dobrei, Alin, Nistor, E., Posta, D., Dobrei, Alina, Velicevici, G., Petcov, A., Sala, F., 2016. *Research Concerning the Influence of Fertilization on Some Physiological Processes*

- and Biochemical Composition of Lavender (*Lavandula Angustifolia L.*). Agriculture and Agricultural Science Procedia 10, 198–205. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2016.09.053>
- Cavanagh, H.M.A., Wilkinson, J.M., 2002. *Biological Activities of Lavender Essential Oil*, Phyther.
- Ceaușescu, V.E., Rădoiaș, G., Cădăriu, T., 1988. *Odorante și Aromatizante*. Chimie, Tehnologie, Aplicații, Ed. Tehnică, București.
- Chen, F., Tholl, D., Bohlmann, J., Pichersky, E., 2011. *The family of terpene synthases in plants: a mid-size family of genes for specialized metabolism that is highly diversified throughout the kingdom*. The Plant Journal 66, 212–229.
- Chizzola, R., 2013. *Regular monoterpenes and sesquiterpenes (essential oils)*, in: Ramawat, K.G., Me`rillon, J.M. (Eds.), *Handbook of Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes*. Springer, Berlin/Heidelberg, Germania, pp. 2973–3003.
- Chrysargyris, A., Drouza, C., Tzortzakis, N., 2017. *Optimization of potassium fertilization/nutrition for growth, physiological development, essential oil composition and antioxidant activity of Lavandula angustifolia Mill.* Journal of Soil Science and Plant Nutrition 17, 291–306. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162017005000023>
- Chrysargyris, A., Panayiotou, C., Tzortzakis, N., 2016. *Nitrogen and phosphorus levels affected plant growth, essential oil composition and antioxidant status of lavender plant (Lavandula angustifolia Mill.)*. Industrial Crops and Products 83, 577–586. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.067>
- Ciocarlan, A., Lupascu, L., Aricu, A., Dragalin, I., Popescu, V., Geana, E.I., Ionete, R.E., Vornicu, N., Dului, O.G., Hristozova, G., Zinicovscaia, I., 2021. *Chemical composition and assessment of antimicrobial activity of lavender essential oil and some by-products*. Plants 10. <https://doi.org/10.3390/plants10091829>
- Council of Europe, European Pharmacopoeia Commission, European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare, 2019. *European pharmacopoeia, 10.0. ed.*
- Demissie, Z.A., Cella, M.A., Sarker, L.S., Thompson, T.J., Rheault, M.R., Mahmoud, S.S., 2012. *Cloning, functional characterization and genomic organization of 1, 8-cineole synthases from Lavandula*. Plant Mol Biol 79, 393–411.
- Demissie, Z.A., Sarker, L.S., Mahmoud, S.S., 2011. *Cloning and functional characterization of β -phellandrene synthase from Lavandula angustifolia*. Planta 233, 685–696.
- Despinasse, Y., Fiorucci, S., Antonczak, S., Moja, S., Bony, A., Nicolè, F., Baudino, S., Magnard, J.L., Jullien, F., 2017. *Bornyl-diphosphate synthase from Lavandula angustifolia: A major monoterpene synthase involved in essential oil quality*. Phytochemistry 137, 24–33. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.01.015>
- Diarra, S.T., He, J., Wang, J., Li, J., 2013. *Ethylene treatment improves diosgenin accumulation in in vitro cultures of Dioscorea zingiberensis via up-regulation of CAS and HMGR gene expression*. Electronic journal of biotechnology 16, 6.
- do Rocio Duarte, M., Carvalho de Souza, D., 2014. *Microscopic characters of the leaf and stem of Lavandula dentata L. (Lamiaceae)*. Microscopy Research and Technique 77, 647–652. <https://doi.org/10.1002/jemt.22384>

- Dudareva, N., Andersson, S., Orlova, I., Gatto, N., Reichelt, M., Rhodes, D., Boland, W., Gershenzon, J., 2005. *The nonmevalonate pathway supports both monoterpene and sesquiterpene formation in snapdragon flowers*. Proceedings of the National Academy of Sciences 102, 933–938.
- Dudareva, N., Klempien, A., Muhlemann, J.K., Kaplan, I., 2013. *Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds*. New Phytologist 198, 16–32.
- Dudareva, N., Pichersky, E., Gershenzon, J., 2004. *Biochemistry of plant volatiles*. Plant Physiol 135, 1893–1902.
- Dušková, E., Dušek, K., Indrák, P., Smékalová, K., 2016. *Postharvest changes in essential oil content and quality of lavender flowers*. Industrial Crops and Products 79, 225–231.
- Economakis, C., Skaltsa, H., Demetzos, C., Soković, M., Thanos, C.A., 2002. *Effect of phosphorus concentration of the nutrient solution on the volatile constituents of leaves and bracts of Origanum dictamnus*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50, 6276–6280. <https://doi.org/10.1021/jf0203444>
- el Hamdaoui, A., Msanda, F., Boubaker, H., Leach, D., Bombarda, I., Vanloot, P., el Aouad, N., Abbad, A., Boudyach, E.H., Achemchem, F., Elmoslih, A., Ait Ben Aoumar, A., el Mousadik, A., 2018. *Essential oil composition, antioxidant and antibacterial activities of wild and cultivated Lavandula mairei Humbert*. Biochemical Systematics and Ecology 76, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2017.11.004>
- Erland, L.A.E., Mahmoud, S.S., 2016. *Lavender (Lavandula angustifolia) Oils*. Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety 501–508. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00057-2>
- Fakhridinova, D.K., Rakhimova, T.R., Dusmuratova, F.M., Duschanova, G.M., Abdinazarov, S.H., Samadov, I.N., 2020. *The Anatomical Structure of Vegetative Organs Lavandula officinalis Chaix in the Introduction of Tashkent Botanical Garden*. American Journal of Plant Sciences 11, 578.
- Firoozeei, T.S., Feizi, A., Rezaeizadeh, H., Zargar, A., Roohafza, H.R., Karimi, M., 2021. *The antidepressant effects of lavender (Lavandula angustifolia Mill.): A systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials*. Complementary Therapies in Medicine. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2021.102679>
- Giuliani, C., Bottoni, M., Ascrizzi, R., Milani, F., Papini, A., Flamini, G., Fico, G., 2020. *Lavandula dentata from Italy: Analysis of Trichomes and Volatiles*. Chemistry & Biodiversity 17, e2000532.
- Guitton, Y., Nicolè, F., Moja, S., Valot, N., Legrand, S., Jullien, F., Legendre, L., 2010. *Differential accumulation of volatile terpene and terpene synthase mRNAs during lavender (Lavandula angustifolia and L. x intermedia) inflorescence development*. Physiologia Plantarum 138, 150–163. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2009.01315.x>
- Hancianu, M., Cioanca, O., Aprotosoiaie, C., Miro, A., 2014. *Plante medicinale de la A la Z*, Editura Polirom, Iasi.
- Hassanpouraghdam, M.B., Hassani, A., Vojodi, L., 2011. *Essential oil constituents of Lavandula ofcinalis Chaix. from Northwest Iran*.
- Hassiotis, C.N., Ntana, F., Lazari, D.M., Poullos, S., Vlachonasios, K.E., 2014. *Environmental and developmental factors affect essential oil production and quality of Lavandula angustifolia during flowering period*. Industrial Crops and Products 62, 359–366. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.08.048>

- Hemmerlin, A., Hoeffler, J.-F., Meyer, O., Tritsch, D., Kagan, I.A., Grosdemange-Billiard, C., Rohmer, M., Bach, T.J., 2003. *Cross-talk between the cytosolic mevalonate and the plastidial methylerythritol phosphate pathways in tobacco bright yellow-2 cells*. *Journal of Biological Chemistry* 278, 26666–26676.
- Henry, L.K., Thomas, S.T., Widhalm, J.R., Lynch, J.H., Davis, T.C., Kessler, S.A., Bohlmann, J., Noel, J.P., Dudareva, N., 2018. *Contribution of isopentenyl phosphate to plant terpenoid metabolism*. *Nat Plants* 4, 721–729.
- Herraziz-Peñalver, D., Cases, M.Á., Varela, F., Navarrete, P., Sánchez-Vioque, R., Usano-Aleman, J., 2013. *Chemical characterization of Lavandula latifolia Medik. essential oil from Spanish wild populations*. *Biochemical Systematics and Ecology* 46, 59–68. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2012.09.018>
- Hoagland, D.R., Arnon, D.I., 1950. *The water-culture method for growing plants without soil*. Circular. California agricultural experiment station 347.
- Huang, S., Kirchoff, B.K., Liao, J., 2008. *The capitate and peltate glandular trichomes of Lavandula pinnata L.(Lamiaceae): histochemistry, ultrastructure, and secretion*. *The Journal of the Torrey Botanical Society* 135, 155–167.
- Huang, S., Liao, J., Wu, Q., 2005. *Developmental anatomy of trichomes in Lavandula pinnata L.* *J. Tropical Subtropical Bot* 14, 134–140.
- Iriti, M., Colnaghi, G., Chemat, F., Smadja, J., Faoro, F., Visinoni, F.A., 2006. *Histo-cytochemistry and scanning electron microscopy of lavender glandular trichomes following conventional and microwave-assisted hydrodistillation of essential oils: A comparative study*. *Flavour and Fragrance Journal* 21, 704–712. <https://doi.org/10.1002/ffj.1692>
- Jianu, C., Pop, G., Gruia, A.T., Horhat, F.G., 2013. *Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of lavender (Lavandula angustifolia) and lavandin (Lavandula x intermedia) grown in Western Romania*. *Int J Agric Biol* 15.
- Jullien, F., Moja, S., Bony, A., Legrand, S., Petit, C., Benabdelkader, T., Poirot, K., Fiorucci, S., Guitton, Y., Nicolè, F., Baudino, S., Magnard, J.L., 2014. *Isolation and functional characterization of a τ -cadinol synthase, a new sesquiterpene synthase from Lavandula angustifolia*. *Plant Molecular Biology* 84, 227–241. <https://doi.org/10.1007/s11103-013-0131-3>
- Kassambara, A., 2013. *ggplot2: guide to create beautiful graphics in R*. Alboukadel KASSAMBARA.
- Koç, H., 2000. *The effect of nitrogen fertilizations on the yield and quality of sage (Salvia officinalis L.)*. *J. Agric. Fac. Gaziosmanpasa Univ.* 17, 89–93.
- Köhler, F.E., 1887. *Köhlers Medizinal-Pflanzen in naturgetreuen Abbildungen und kurz erläuterndem Texte*. Köhler, Gera, Germany (1883-1914).
- Landmann, C., Fink, B., Festner, M., Dregus, M., Engel, K.-H., Schwab, W., 2007. *Cloning and functional characterization of three terpene synthases from lavender (Lavandula angustifolia)*. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 465, 417–429.
- Lane, A., Boeckleemann, A., Woronuk, G.N., Sarker, L., Mahmoud, S.S., 2010. *A genomics resource for investigating regulation of essential oil production in Lavandula angustifolia*. *Planta* 231, 835–845. <https://doi.org/10.1007/s00425-009-1090-4>

- Lange, B.M., Ahkami, A., 2013. *Metabolic engineering of plant monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes—current status and future opportunities*. *Plant Biotechnol J* 11, 169–196.
- Laule, O., Fürholz, A., Chang, H.-S., Zhu, T., Wang, X., Heifetz, P.B., Grisse, W., Lange, M., 2003. *Crosstalk between cytosolic and plastidial pathways of isoprenoid biosynthesis in Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100, 6866–6871.
- Lesage-Meessen, L., Bou, M., Sigoillot, J.C., Faulds, C.B., Lomascolo, A., 2015. *Essential oils and distilled straws of lavender and lavandin: a review of current use and potential application in white biotechnology*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 99, 3375–3385. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6511-7>
- Li, J., Wang, Y., Dong, Y., Zhang, W., Wang, D., Bai, H., Li, K., Li, H., Shi, L., 2021. *The chromosome-based lavender genome provides new insights into Lamiaceae evolution and terpenoid biosynthesis*. *Hortic Res* 8.
- Lis-Balchin, M., 2002. *Lavender: the genus Lavandula*. CRC press.
- Lis-Balchin, M., 2002. *Chemical composition of essential oils from different species, hybrids and cultivars of Lavandula. Lavender: the genus Lavandula*. Taylor & Francis, London 251–262.
- Luncean, E., Duda, M.M., Ghețe, A., Muresan, C., Simea, Ș L., 2018. *Lavender (Lavandula angustifolia Mill.) – a very valuable plant in the current romanian landscape*. *Hop Med. Plants* 26, 30–38.
- Lungu, C., Corciova, A., Spac, A., Ciobanu, C., Ivanescu, B., 2014. *Evaluation of bioactive compounds from commercial lavender products and comparative histo-anatomical study*. *Analele Stiintifice ale Universitatii " Al. I. Cuza" din Iasi* 60, 11.
- MacTavish, H., Harris, D., 2002. *An economic study of essential oil production in the UK*, in: ADAS R & D Contract Report (M137/62) to the Government-Industry Forum on Non Food Uses of Crops.
- Martínez-Natarén, D.A., Parra-Tabla, V., Dzib, G., Calvo-Irabién, L.M., 2011. *Morphology and density of glandular trichomes in populations of Mexican oregano (Lippia graveolens H.B.K., Verbenaceae), and the relationship between trichome density and climate*. *Journal of the Torrey Botanical Society* 138, 134–144. <https://doi.org/10.3159/TORREY-D-10-00007.1>
- Mason, J., 2014. *Growing and knowing lavender*. ACS Distance Education.
- Mendoza-Poudereux, I., Kutzner, E., Huber, C., Segura, J., Eisenreich, W., Arrillaga, I., 2015. *Metabolic cross-talk between pathways of terpenoid backbone biosynthesis in spike lavender*. *Plant Physiology and Biochemistry* 95, 113–120.
- Mill, L.A., Najar, B., Demasi, S., Caser, M., Gaino, W., Cioni, P.L., Pistelli, L., Scariot, V., 2019. *Cultivation Substrate Composition Influences Morphology, Volatilome and Essential Oil of Lavandula Angustifolia Mill.* *Agronomy*, 9(8), p.411.
- Mulder-Krieger, T., Verpoorte, R., Svendsen, A.B., Scheffer, J.J.C., 1988. *Production of essential oils and flavours in plant cell and tissue cultures. A review*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 13, 85–154. <https://doi.org/10.1007/BF00034451>
- Muñoz-Bertomeu, J., Ros, R., Arrillaga, I., Segura, J., 2008. *Expression of spearmint limonene synthase in transgenic spike lavender results in an altered monoterpene composition in developing leaves*. *Metabolic Engineering* 10, 166–177.

- Mushtaq, A., Anwar, R., Farooq Gohar, U., Ahmad, M., Marc, R.A., Carmen, C., Muresan, M., Irimie, M., Bobescu, E., Smeriglio, A., 2021. *Biomolecular Evaluation of Lavandula stoechas L. for Nootropic Activity*. <https://doi.org/10.3390/plants>
- Nikolakaki, A., Christodoulakis, N.S., 2006. *Histological investigation of the leaf and leaf-originating calli of Lavandula vera L.* Israel Journal of Plant Sciences 54, 281–290. https://doi.org/10.1560/IJPS_54_4_281
- Nimet, K., Baydar, H., 2013. *Determination of lavender and lavandin cultivars (Lavandula sp.) containing high quality essential oil in Isparta, Turkey*. Turkish Journal of Field Crops 18, 58–65.
- Passalacqua, N.G., Tundis, R., Upton, T.M., 2017. *A new species of Lavandula sect. Lavandula (Lamiaceae) and review of species boundaries in Lavandula angustifolia*. Phytotaxa 292, 161–170. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.292.2.3>
- Prins, C.L., Vieira, I.J.C., Freitas, S.P., 2010. *Growth regulators and essential oil production*. Brazilian Journal of Plant Physiology 22, 91–102. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202010000200003>
- Prusinowska, R., Śmigielski, K.B., 2014. *Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender (Lavandula angustifolia L). A review*. Herba Polonica 60, 56–66. <https://doi.org/10.2478/hepo-2014-0010>
- Riva, A.D., Petry, C., Severo, B.M.A., 2014. *Caracterizacão anatômica de folhas e inflorescências de espécies de lavanda (Lamiaceae) utilizadas como medicinais no Brasil*. Ciência e Natura 36. <https://doi.org/10.5902/2179460x13654>
- Robu, S., Aprotosoiaie, A., Şpac, A., Cioancă, O., Hăncianu, M., Stănescu, U., 2011. *Cercetări privind compoziția chimică a uleiurilor volatile extrase din flori de levănțică*. Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iași 115, 584–589.
- Robu, S., Galeş, R., Toma, C., Stănescu, U., 2011. *Cercetări histo-anatomice privind două subspecii de Lavandula angustifolia Mill.* The Medical-Surgical Journal 115, 232–235.
- Saadatian, M., Aghaei, M., Farahpour, M., Balouchi, Z., 2013. *Chemical composition of lavender (Lavandula officinallis L.) extraction extracted by two solvent concentrations*. Global Journal of Medicinal Plant Research 1, 214–217.
- Salehi, B., Mnayer, D., Özçelik, B., Altin, G., Kasapoğlu, K.N., Daskaya-Dikmen, C., Sharifi-Rad, M., Selamoglu, Z., Acharya, K., Sen, S., Matthews, K.R., Fokou, P.V.T., Sharopov, F., Setzer, W.N., Martorell, M., Sharifi-Rad, J., 2018. *Plants of the genus Lavandula: From farm to pharmacy*. Natural Product Communications 13, 1385–1402. <https://doi.org/10.1177/1934578x1801301037>
- Sarker, L.S., Demissie, Z.A., Mahmoud, S.S., 2013. *Cloning of a sesquiterpene synthase from Lavandula x intermedia glandular trichomes*. Planta 238, 983–989.
- Sarker, L.S., Galata, M., Demissie, Z.A., Mahmoud, S.S., 2012. *Molecular cloning and functional characterization of borneol dehydrogenase from the glandular trichomes of Lavandula x intermedia*. Archives of Biochemistry and Biophysics 528, 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2012.09.013>
- Săvulescu, T., 1952. *Flora republicii populare romane*. Editura Academiei R.P.R., Bucureşti
- Schuh, C.A., Radykewicz, T., Sagner, S., Latzel, C., Zenk, M.H., Arigoni, D., Bacher, A., Rohdich, F., Eisenreich, W., 2003. *Quantitative assessment of crosstalk between the two isoprenoid biosynthesis pathways in plants by NMR spectroscopy*. Phytochemistry Reviews 2, 3–16.

- Segura, J., Muñoz-Bertomeu, J., Mendoza-Poudereux, I., Arrillaga, I., 2019. *Biotechnological Approaches to Increase Essential Oil Yield and Quality in Aromatic Plants: The Lavandula latifolia (Spike Lavender) Example. Past and Recommendations for the Future*, in: Essential Oil Research. Springer International Publishing, pp. 301–325. https://doi.org/10.1007/978-3-030-16546-8_11
- Shahdadi, H., Bahador, R.S., Eteghadi, A., Boraiinejad, S., 2017. *Lavender a plant for medical uses: a literature review*. Indian J. Public Heal. Res. Dev 8, 328–332.
- Silva, S.M., Luz, J.M.Q., Nogueira, P.A.M., Blank, A.F., Sampaio, T.S., Pinto, J.A.O., Junior, A.W., 2017. *Organo-mineral fertilization effects on biomass and essential oil of lavender (Lavandula dentata L.)*. Industrial Crops and Products 103, 133–140.
- Skoufogianni, E., Giannoulis, K.D., Bartzialis, D., Tzouvara, D., Danalatos, N.G., 2017. *The effect of fertilization on Lavandula angustifolia L. yield in North Greece*, in: VIII International Scientific Agriculture Symposium, “Agrosym. pp. 1037–1043.
- Sönmez, Ç., Şimşek Soysal, A.Ö., Okkaoğlu, H., Karık, Ü., Taghiloofer, A.H., Bayram, E., 2018. *Determination of some yield and quality characteristics among individual plants of lavender (Lavandula angustifolia mill.) populations grown under mediterranean conditions in Turkey*. Pakistan Journal of Botany 50, 2285–2290.
- Sousa Silva, M., Salgueiro, L., Martinussen, I., Scariot, V., Demasi, S., Caser, M., Lonati, M., Cioni, P.L., Pistelli, L., Najar, B., 2018. *Latitude and Altitude Influence Secondary Metabolite Production in Peripheral Alpine Populations of the Mediterranean Species Lavandula angustifolia Mill.* Frontiers in Plant Science | www.frontiersin.org 1, 983. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00983>
- Ştefan, G.-A., Zamfirache, M.M., Ivănescu, C.L., 2021. *Histo-anatomical and micromorphological investigations on six Lavandula L. taxa*. Analele Ştiinţifice ale Universităţii „Al. I. Cuza” Iaşi s. II a. Biologie vegetală 67, 42–56.
- Ştefan, G.-A., Zamfirache, M.M., Ivănescu, C.L., 2021. *Histo-anatomical and micromorphological modifications of the stem and leaves in four cultivars of Lavandula angustifolia Mill. supplemented with Hoagland nutrient solution*. Studia Universitatis „Vasile Goldiş” Seria Ştiinţele Vieţii (Life Science Series) Vol. 31, issue 4 (acceptat spre publicare)
- Szekely-Varga, Z., Cantor, M., 2019. *Lavender an Admired Shrub by Landscapers*. ProEnvironment Promediu 12.
- Tanase, C., Ştefănescu, R., Darkó, B., Muntean, D.L., Fărcaş, A.C., Socaci, S.A., 2020. *Biochemical and Histo-Anatomical Responses of Lavandula angustifolia Mill. to Spruce and Beech Bark Extracts Application*. Plants 9, 859.
- Team, R.C., 2013. *R: A language and environment for statistical computing*.
- Toma, C., Niţă, M., 1982. *Observaţii histo-anatomice asupra unor clone de levănţică (Lavandula angustifolia Mill.)*. An. şt. Univ. Iaşi, sect. a II-a 28, 23–28.
- Tomescu, A., Rus, C., Pop, G., Alexa, E., Şumălan, R., Copolovici, D., Negrea, M., 2015. *Chemical composition of Lavandula angustifolia L. and Rosmarinus officinalis L. essential oils cultivated in West Romania*, Research Journal of Agricultural Science.

- Tsuro, M., Asada, S., 2014. *Differential expression of limonene synthase gene affects production and composition of essential oils in leaf and floret of transgenic lavandin (Lavandula × intermedia Emeric ex Loisel.)*. Plant Biotechnol Rep 8, 193–201.
- Tucker, A.O., Maciarello, M., Howell, J.T., 1984. *The effect of sand topdressing and fertilizer on inflorescence and essential oil yield in 'Dutch' lavandin [Lavandula X intermedia, Delaware]*. HortScience (USA).
- Turner, G.W., Gershenzon, J., Croteau, R.B., 2000. *Development of peltate glandular trichomes of peppermint*. Plant Physiol 124, 665–680.
- Upton, T., 2002. *The taxonomy of the genus Lavandula L. Lavender: the genus Lavandula*. Taylor & Francis, London 2–34.
- Upton, T., Andrews, S., 2004. *The genus lavandula*. Royal Botanic Gardens Kew.
- Urwin, N.A.R., Mailer, R.J., 2008. *Oil content and fatty acid profiles of seed oil from the genus Lavandula*. JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society 85, 491–492. <https://doi.org/10.1007/s11746-008-1222-1>
- Verma, R.S., Rahman, L.U., Chanotiya, C.S., Verma, R.K., Chauhan, A., Yadav, A., Singh, A., Yadav, A.K., 2010. *Essential oil composition of Lavandula angustifolia Mill. cultivated in the mid hills of Uttarakhand, India*. Journal of the serbian chemical society 75, 343–348.
- Wang, A.M., Doyle, M. v, Mark, D.F., 1989. *Quantitation of mRNA by the polymerase chain reaction*. Proceedings of the National Academy of Sciences 86, 9717–9721.
- Wells, R.S., Adal, A.M., Bauer, L., Najafianashrafi, E., Mahmoud, S.S., 2020. *Cloning and functional characterization of a floral repressor gene from Lavandula angustifolia*. Planta 251, 1–11.
- Werker, E., 1993. *Function of essential oil-secreting glandular hairs in aromatic plants of Lamiaceae—a review*. Flavour and Fragrance Journal 8, 249–255.
- Wickham, H., 2016. *ggplot2: elegant graphics for data analysis*. Springer.
- Woronuk, G., Demissie, Z., Rheault, M., Mahmoud, S., 2011. *Biosynthesis and therapeutic properties of lavandula essential oil constituents*. Planta Medica 77, 7–15. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1250136>
- Yukes, J.E., Balick, M.J., 2010. *Dominican medicinal plants: a guide for health care providers*. New York Botanical Garden, New York.
- Zamfirache, M.M., Burzo, I., Gostin, I., Ivănescu, L., Berciu, I., Gales, R.C., Pădurariu, C., Olteanu, Z., Mihășan, M., Truță, E., 2009. *Micromorphology, anatomy and volatile constituents of leaf in some Lamiaceae species*. Planta Medica 75, PJ121.
- Zamfirache, M.-M., Burzo, I., Padurariu, C., Boz, I., Andro, A.-R., Badea, M.L., Olteanu, Z., Lamban, C., Truta, E., 2010. *Studies regarding the chemical composition of volatile oils from some spontaneous and cultivated Lamiaceae species*. Analele Stiintifice ale Universitatii" Al. I. Cuza" din Iasi 56, 43.
- Zhao, J., Xu, F., Ji, T., 2015. *Evaluation on bioactivities of total flavonoids from Lavandula angustifolia*, Article in Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences.
- Zuzarte, M. da R., 2013. *Portuguese lavenders: evaluation of their potential use for health and agricultural purposes*.
- Zuzarte, M., Gonçalves, M.J., Cavaleiro, C., Dinis, A.M., Canhoto, J.M., Salgueiro, L.R., 2009. *Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of Lavandula pedunculata (Miller) Cav*. Chemistry & Biodiversity 6, 1283–1292.

Zuzarte, M.R., Dinis, A.M., Cavaleiro, C., Salgueiro, L.R., Canhoto, J.M., 2010. *Trichomes, essential oils and in vitro propagation of Lavandula pedunculata (Lamiaceae)*. *Industrial Crops and Products* 32, 580–587.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.07.010>