

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

**Cercetări asupra unor parametri biologici a unor specii ale
genului *Viola* L.: bioresurse cu potențial complex de valorificare**

REZUMAT

**Conducător de doctorat:
PROFESOR UNIVERSITAR DR. EMERIT
MARIA – MAGDALENA ZAMFIRACHE**

**Student-doctorand:
ROSENHECH ELIDA**

**IAȘI
2025**

Cuprins

Introducere

Stadiul actual al cercetărilor

1. Istoricul genului *Viola* L.
2. Variabilitatea taxonomică a speciilor luate în studiu
 - 2.1. Subgenul *Viola* s.lat.
 - 2.2. Subgenul *Melanium* Ging.
3. Material, metode și tehnici de lucru

Rezultate personale

4. Cercetări morfo-anatomice asupra unor specii ale subgenului *Viola*
 - 4.1. Grupul (subsecția) *Viola* (= *Uncinatae* Kupffer, *Scapigerae* W.Becker, *Curvato-pedunculatae* W.Becker)
 - 4.1.1..Analize de morfometrie la taxoni ai speciilor *V. odorata* L., *V. suavis* Bieb., *V. alba* Bess.
 - 4.1.2.Analize de anatomie la taxoni ai speciilor *V. odorata* L., *V. suavis* Bieb., *V. alba* Bess.
 - 4.2. Grupul (subsecția) *Rostratae* Kupffer (W. Becker)
 - 4.2.1. Analize de morfometrie la taxoni ai speciei *V. canina* L.
 - 4.2.2. Analize de anatomie la taxoni ai speciei *V.canina* L.
5. Cercetări morfo-anatomice asupra unor specii ale subgenului *Melanium*
 - 5.1. Analize de morfometrie la taxoni ai speciilor *V. declinata* W. et. K., *V. dacica* Borbás, *V. arvensis* Murray, *V. kitaibeliana* Shult. și *V. tricolor* L.
 - 5.2. Analize de anatomie la taxoni ai speciilor *V. declinata* W. et. K., *V. dacica* Borbás, *V. arvensis* Murray, *V. kitaibeliana* Shult. și *V. tricolor* L
6. Analiza cantitativă a pigmentilor asimilatori
7. Analiza cantitativă totală a fenolilor
8. Analiza cantitativă totală a compușilor flavonoidici
9. Analiza cantitativă totală a pigmentilor antocianici
10. Determinarea capacității antioxidante
11. Taxonii genului *Viola* L., bioresurse cu potențial complex de valorificare
12. Discuții
 - 12.1. Discriminarea speciilor pe baza indicilor morfometrici
 - 12.1.1. Subgenul *Viola*
 - 12.1.2. Subgenul *Melanium*
 - 12.2. Discriminarea speciilor pe baza structurii anatomice
 - 12.2.1. Subgenul *Viola*

12.2.2. Subgenul *Melanium*

12.3. Confirmarea taxonomică a speciilor

12.4. Conținutul de pigmenți asimilatori

12.5. Cantitatea totală de fenoli

12.6. Cantitatea totală de flavonoide

12.7. Cantitatea totală de pigmenți antocianici

12.8. Evaluarea potențialului antioxidant

12.8. Evaluarea potențialului complex de valorificare al speciilor

Concluzii

Anexe

Bibliografie

Introducere

Speciile genului *Viola* –violetă, toporaș, panseluță – sunt răspândite pe toate continentele, din zona temperată până în zona tropicală. Din totalul de aproximativ 550-600 de specii ale acestui gen, 28 de specii identificate vegetează spontan în România (Sârbu și colab., 2013; Toma și Ivănescu, 2013; Marcussen și colab., 2022).

Interesul pentru utilizarea speciilor din genul *Viola* L. în industria farmaceutică provine din practicile medicinei tradiționale.

Pe plan internațional studii privind biochimia speciilor genului *Viola* au evidențiat potențialul farmaceutic al acestora (Hammami și colab., 2011, 2012; Hellinger și colab., 2014; Saint-Lary și colab., 2014).

Din punct de vedere ecologic, plantele au rol important în menținerea biodiversității (Knudsen și colab., 2006). Speciile subgenului *Melanium* sunt cunoscute ca fiind metalofite cu rol în depoluarea solului și în restaurarea ecosistemelor (Karatoteva și colab., 2014).

Studiul de față are drept obiectiv principal completarea informațiilor științifice actuale cu date noi privind biologia unor taxoni aparținând genului *Viola* existenți în flora noastră spontană, colectați din Regiunea Nord-Estică a țării.

Au fost luate în studiu trei specii cunoscute și mai atent studiate pe plan internațional (*V. odorata* L., *V. tricolor* L. și *V. arvensis* Murr.) în vederea completării unor date referitoare la biologia acestora. Aceste specii urmează a fi folosite ca etalon în cercetările comparative cu alte specii mai puțin cunoscute aparținând patrimoniului vegetal românesc. Speciile *V. declinata* W. et K. și *V. dacica* Borb. au un statut special, considerate a fi endemice pentru Munții Carpații Păduroși, Orientali și Meridionali (Hurdu și colab., 2012; Alexiu, 2013).

Complexitatea taxonomică și hibridizarea intraspecifică la scară mare, provoacă confuzii în ceea ce privește încadrarea sistematică a speciilor (Marcussen și colab., 2022), motiv pentru care lucrarea de față urmărește și tratarea unor aspecte privind variabilitatea taxonomică prin cercetări comparative ale unor parametri biologici. Cele nouă specii ale genului *Viola* L. luate în studiu sunt: *V. arvensis* Murr., *V. canina* L., *V. dacica* Borb., *V.*

declinata W. et K., *V. kitaibeliana* Schult., *V. odorata* L., *V. suavis* Bieb. și *V. tricolor* L.

În acest context, lucrarea de față urmărește să realizeze un studiu comparativ a unor parametri biologici și biochimici ai respectivilor taxoni, în vederea completării stadiului cunoașterii privind elemente ale variabilității genului *Viola* L.

Cercetările preliminare privind variabilitatea genului *Viola* L. au condus la cristalizarea următoarelor obiective principale ce fac subiectul tezei:

- cercetarea comparativă a unor **parametri morfo-anatomici**, cu accent pe speciile care prezintă plasticitate fenotipică, în vederea completării unor elemente privind variabilitatea acestora;
- cercetarea unor **parametri fitochimici**, cu potențial de utilizare farmaceutică, în vederea completării unor date din literatura științifică actuală;
- cercetări privind **potențialul de valorificare** al speciilor ca bioresurse.

1. Istoricul genului *Viola* L.

Interesul pentru utilizarea plantelor acestui gen, în industria farmaceutică, provine din practicile medicinei tradiționale. În prezent, câteva specii sunt recunoscute ca prezentând acțiune antimicrobiană și antifungică, antiplasmodială și antihelmintică (Hammami și colab., 2011, 2012). De asemenea, diferite specii au activitate antihipertensivă, antidislipidemică, anticancer, analgezică, antipiretică, antiinflamatoare, diuretică, anti-HIV și antiastmatică (Muhammad și colab., 2012).

În România cercetări asupra speciilor *Viola*, au evidențiat prezența uleiurilor volatile la speciile *V. tricolor* și *V. arvensis* (Toiu și colab., 2006), conținutul de acid salicilic *V. tricolor*, *V. arvensis* și *V. declinata* (Toiu și colab., 2008), conținutul în compuși fenolici la *V. declinata*, (Toiu și colab., 2009), cantitatea de flavonoide la *V. arvensis* și *V. declinata* (Toiu și colab.,

2017), precum și compoziția extractelor metanolice, cu analiza saponinelor, mucilagiilor și pigmentilor carotenoizi (Toiu și colab., 2009).

Cele mai noi studii și tehnologii, utilizează compuși bioactivi specifici genului *Viola* în tratamente moderne împotriva bolilor neurogenerative și cancerului (Pränting și colab., 2010; Chandra și colab., 2015; Moliner și colab., 2019; Dayani și colab., 2022). Ciclotidele și compușii flavonoidici izolați din extracte de *Viola sp.* sunt utilizați ca principii active antibacteriene (Pränting și colab., 2010; Zarrabi și colab., 2013). Flavonoidele, precum violantina, sunt integrate în țesături prin tehnologii moderne de încapsulare, pentru pacienți care au nevoie de haine cu protecție împotriva ultravioletoarelor sau tratamente pentru afecțiuni ale pielii (de exemplu, pentru tratarea eczemelor) (Zimniewska, 2019).

2. Variabilitatea taxonomică a speciilor luate în studiu

Genul *Viola* L. (familia *Violaceae* Batsch.) este împărțit în aproximativ 16 subgenuri (Sârbu și colab., 2013; Marcussen și colab., 2015). Plantele acestui gen se dezvoltă în aproape toate zonele ecologice, cu excepția Antarcticii, dar cu precădere în zonele temperate ale ambelor emisfere. Epicentrul taxonomic este în zona Mediteraneană, Asia de Est și America de Nord (Marcussen și colab., 2022).

Speciile luate în studiu se încadrează în:

- subgenul (secția) *Viola* s.lat.;
 - grupul (subsecția) *Viola* - *V. odorata* L., *V. suavis* Bieb. și *V. alba* Bess.
 - grupul (subsecția) *Rostratae* - *V. canina* L.
- subgenul (secția) *Melanium* Ging., grupul (subsecția) *Bracteolatae* – *V. declinata* W. et. K., *V. dacica* Borbás, *V. arvensis* Murray, *V. kitaibeliana* Shult. și *V. tricolor* L.

2.1. Subgenul *Viola* s.lat.

■ *Viola odorata* L.

Planta este anuală (înflorește în lunile martie-aprilie), dar poate fi și bianuală, cu răspândire pe teritoriul întregii țări. Este caracterizată printr-un rizom dens articulat, stoloni lungi laterali, frunzele dispuse în rozetă, stipele ovate lanceolate (Ciocîrlan, 1988; Ballard și colab., 1999; Jonsell și colab., 2009; Chifu și colab., 2001, 2006). Datorită condițiilor diverse ale habitatului, specia are o variabilitate morfologică mare. Culoarea petalelor este în general violet, dar uneori poate fi: liliachie, albă, roz pal, sulfurie, albastră, roșcată, pestriță (Ciocîrlan, 1988; Jonsell și colab., 2009).



Figura. 1. *V. odorata* L. (Loc. Bârnova, Iași, România, 2020, foto original)

■ *Viola suavis* Bieb.

Este o plantă perenă (înflorește în lunile martie-aprilie) răspândită de la câmpie (zona stepică) până în etajul montan (etajul fagului), care preferă solurile bogate în nutrienți (Ciocîrlan, 1988; Marcussen și Nordal, 1998; Jonsell și colab., 2009).

În general, specia este caracterizată prin rizomi scurți cu articulație densă, de 4-5 mm grosime, stoloni supraterani de 15 cm lungime, aproximativ 2 mm grosime, uneori stoloni subterani, stipele lung fimbriate și bracteole inserate pe jumătatea inferioară a pedunculului florifer (Mered'a Jr și colab., 2008; Jonsell și colab., 2009; Sârbu și colab., 2013). Datorită diferitelor tipuri de habitate, taxonul are o plasticitate fenotipică mare, la fel ca și speciile *V. odorata* L. și *V. alba* Bess.



Figura. 2. *V. suavis* Bieb. (Loc. Bârnova, Iași, România, 2019, foto original)

■ *Viola alba* Bess.

Este o plantă perenă (înflorește în lunile martie-aprilie), răspândită până la o altitudine de aproximativ 700 m. Este frecventă în zona stepică și până în etajul fagului (Beldie și colab., 1955; Ciocârlan, 1988; Jonsell și colab., 2009).

Este caracterizată prin flori cu petale albe, frunze aproape ovate și acute, stipele liniar-lanceolate și lung fimbriate, de culoare verde

deschis, și stoloni destul de lungi (30 cm) care nu se înrădăcinează la noduri. Rizomul este dens articulat (Jonsell și colab., 2009; Sârbu și colab., 2013).



Figura. 3. *V. alba* Bess. (Loc. Bârnova, Iași, România, 2020, foto original)

■ *Viola canina* L.

Face parte din subsecția *Rostratae* Kupffer (W. Becker).

Plantele sunt perene (înflorire în lunile mai-iunie). Este frecventă în zona pădurilor de stejar până în etajul molidului (1200 – 1700 m altitudine). Preferă habitate însorite cu umbră moderată (Chifu și colab., 2001, 2006; Jonsell și colab., 2009).

Specia este caracterizată prin tulpina ierboasă, stipele libere și lungi, până la jumătatea pețiolului. Stilul are o formă cilindrică, iar stigmatul este rostrat.

Datorită varietății ridicate de habitate locuite, plantele pot avea stipelele și frunzele diferite ca mărime și formă generală, sau florile de culori variate (Beldie și colab., 1955; Jonsell și colab., 2009; Espeut, 2020).



Figura. 4. *V. canina* L. (Loc. Bârnova, Iași, România, 2020, foto original)

2.2 Subgenul *Melanium* Ging.

■ *Viola declinata* W. et. K.

Această plantă este perenă și înflorește în lunile iulie-august. Specia se caracterizează prin frunzele mijlocii eliptic-lanceolate și cele superioare liniar-lanceolate. Stipelele sunt fin sectate până la nervura mediană (Sârbu și colab., 2013).

Este frecventă în etajul molidului până la etajul jneapănului, în pajiști (Tomescu și Harasemciuc, 2018). Este

caracteristică pentru pășunile cu *Nardus stricta*. Se dezvoltă în jnepenișuri, rariști de pădure, locuri însorite, pe stânci și grohotișuri. De asemenea, este întâlnită pe pajiștile instalate secundar, în urma defrișării molidișurilor (Chifu și colab., 2006; Togor și Burescu, 2013).

Această specie este endemică pentru zona Carpaților Păduroși, Orientali, Meridionali (Ciocârlan, 1988; Coldea și colab., 2009; Hurdu și colab., 2012).

În România, ca urmare a observațiile personale realizate pe teren în perioada 2015-2022, putem semnala prezența acestei specii în pajiști alpine și subalpine din diferite subdiviziuni ale Munților Carpați, precum: M-ții Călimani, trasee către 12 Apostoli și Vf. Pietrosul Călimanilor; Munții Rodnei pe Șaua Gârgălău, platoul Știol, Căldarea Iezerul Pietrosului și în apropiere de Vârful Craiu; M-ții Bucegi pe Șaua Țigănești și platoul Vf. Scara; M-ții Piatra Craiului - Vf. Măgura Mare.



Figura. 5. *V. declinata* W. et. K. (Vf. Pietrosul Călimanilor, România, 2020, foto original)

■ *Viola dacica* Borbás

Plantă perenă care înflorește în lunile iulie-august. Este frecventă în etajul molidului și al jneapănului. Este endemică pentru Europa (Coldea și colab., 2009; Hurdu și colab., 2012).

Specia se caracterizează prin frunzele mijlocii lat-ovate și cele superioare alungit-ovate. Stipelele mai puțin divizate, 1/2-1/3 din lățimea acestora, partea nedivizată mai lată decât lungimea segmentelor (Sârbu și colab., 2013).

Observații personale din perioada 2015-2022, în România, evidențiază prezența acestei specii în pajiști și pășuni (alpine și subalpine) din: M-ții Călimani, începând din zona Neagra Șarului până la 12 Apostoli, respectiv până la Vf. Pietrosul Călimanilor, M-ții Rodnei pe culmile Lucurel și Craia, Măgura Sângeorz, Șaua Obârșia Rebrii; M-ții Giupalău, M-ții Ceahlău, M-ții Făgăraș în zonele Fereastră Mare, Vf. Urlea, Vf. Dara și Vf. Hârtoșul Darei.



Figura. 6. V. dacica Borbás (Măgura Sângeorz, M-ții Rodnei, România, 2020, foto original)

■ *Viola arvensis* Murray

Este cosmopolită, anuală, înflorește în lunile mai-august, planta având o răspândire pe întreg teritoriul României. Specia este frecventă în zona stepii până la etajul fagului, răspândită în zona de deal, până la limita culturii de cereale și până la etajul subalpin (Beldie și colab., 1955; Ciocârlan, 1988; Sârbu și colab., 2013).

Caracteristic speciei este lungimea corolei egale sau mai scurtă decât cu caliciul, cu flori de 1-

1.5 cm lungime. Frunzele mijlocii sunt alungite, ovat-eliptice (Sârbu și colab., 2013).



Figura. 7. V. arvensis Murray (Loc. Cioatele, Vaslui, România, 2018, foto original)

Specia este similară morfologic cu *V. tricolor* L. și *V. kitaibeliana* Shult. motiv pentru care pot apărea erori de identificare (Jonsell și colab., 2009; Espeut, 2020).

■ *Viola kitaibeliana* Shult.

Planta este anuală și înflorește în lunile aprilie-iulie. În general o întâlnim pe coaste pietroase sau nisipoase, pajiști și tufărișuri, preferă locurile aride. Este sporadică în zona stepei și până în etajul gorunului (până la 600-700 m altitudine) (Beldie și colab., 1955; Magrini și Scoppola, 2015).

Caracteristic speciei este lungimea florii de 0,4-0,8 cm și frunzele mijlocii lat-ovate (Sârbu și colab., 2013).

Plasticitatea fenotipică cauzează probleme de identificare a speciei, deoarece, aceasta are caracteristici morfologice similare cu *V. arvensis* Murray și *V. tricolor* L. (Espeut, 2020).

Această specie este considerată ca fiind pe cale de dispariție în Italia, motiv pentru care are un statut special (Magrini și Zucconi, 2020).



Figura. 8. *V. kitaibeliana* Shult. (Loc. Târgu Neamț, Neamț, România, 2019, foto original)

■ *Viola tricolor* L.

Este o specie cosmopolită, planta având o răspândire pe întregul teritoriu al României, și aproape pe întregul teritoriu european. Înflorește în lunile mai-august. Este anuală, uneori bianuală. Această specie este răspândită în zona de deal (200-300 m altitudine minimă), până la etajul subalpin (Chifu și colab., 2006; Tomescu și Harasemciuc, 2018; Espeut, 2020).

Specia se caracterizează prin



Figura. 9. *V. tricolor* L. (Fălticeni, Suceava, România, 2019 foto original)

lungimea corolei care este mai lungă decât caliciul și stipele penat-lobate cu segmentul terminal mai mare decât cei laterali (Sârbu și colab., 2013).

Datorită habitatelor cu cerințe ecologice diferite, unele caracteristici morfologice prezintă varietăți fenotipice influențate de condițiile de mediu, în principal de calitățile solului (Jonsell și colab., 2009; Słomka și colab., 2008, 2011; Bezlova și colab., 2012).

3. Material, metode și tehnici de lucru

1. Materialul vegetal investigat

Speciile investigate au fost colectate din diferite habitate de floră spontană localizate în patru județe din România: Iași, Neamț, Suceava și Vaslui.

Materialul vegetal aparținând speciilor selectate pentru studiu a fost recoltat în timpul fenofazei de înflorire, din trei populații diferite, pe o perioadă de doi ani consecutivi.

Materialul vegetal a fost determinat taxonomic conform Sârbu și colab., 2013 și verificat de către dna. Biolog dr. Irimia Irina, Herbariul Facultății de Biologie, Universitatea „Alexandru Ioan Cuza” din Iași, unde sunt depuse și vouchere ale taxonilor luați în studiu.

2. Tehnici de analiză morfologică

Morfometria a fost realizată pe exemplare ierborizate. Măsurătorile au fost realizate conform metodelor descrise în literatura de specialitate (Marcussen și Nordal, 1988; Marcussen și colab., 2001; Marcussen, 2003; Hodálová și colab., 2008).

3. Metode și tehnici de histo-anatomie vegetală

Materialul vegetal conservat în alcool etilic de concentrație 70%, a fost secționat cu un microtom de mână și un brici botanic. Probele astfel obținute au fost studiate și fotografiate cu un microscop optic (Niță și colab, 1997; Toma, 2003; Cutler și Botha 2007).

4. Determinarea conținutului de apă și substanță uscată

A fost utilizată metoda clasică de eliminare a apei prin uscarea repetată a materialului vegetal (Boldor și colab., 1982; Hodgson și colab., 2011).

5. Analiza cantitativă a pigmentilor asimilatori

Pigmenții asimilatori au fost extrași utilizând metoda Mayer–Bertenrath (Boldor și colab., 1982).

6. Analiza cantitativă a pigmentilor antocianici

Pentru determinarea cantitativă a pigmentilor antocianici s-a utilizat metoda diferențială a pH-ului (Fuleki și Francis, 1968).

7. Extracte vegetale

Materialul vegetal uscat conținând partea aeriană a plantelor, fără flori, a fost mărunțit mecanic. Solvenții utilizați pentru obținerea extractelor au fost apă distilată și etanol 50%. Extractele vegetale au fost realizate pentru patru concentrații: 0,5%, 1%, 2,5 % și 5% m/v (greutate material uscat/volum).

8. Analiza cantitativă a fenolilor

Pentru evaluarea cantitativă a conținutului de fenoli am utilizat metoda cu reactiv Folin-Ciocalteu (Herald și colab., 2012).

9. Analiza cantitativă a flavonoidelor

Pentru evaluarea cantității totale de flavonoide am utilizat metoda clasică de analiză preluată din Jia și colab., 1999, respectiv, Herald și colab., 2012.

10. Determinarea activității antioxidante

Estimarea activității antioxidante s-a realizat folosind radicalul liber stabil 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, pe baza unei reacții colorimetrice (Blois, 1985; Molyneux, 2003; Siatka și Kašparová, 2010).

11. Prelucrarea statistică a datelor

Prelucrarea statistică a datelor s-a efectuat cu ajutorul programelor Microsoft Excel 2015, XLSTAT și OriginLab Pro.

12. Analiza PCR

Analiza PCR a fost realizată în cadrul Laboratorului de Biologie Moleculare și Metagenomică, Universitatea „Ștefan cel Mare” din Suceava.

a) Extracția ADN genomic

ADN-ul genomic a fost extras din material vegetal uscat utilizând kitul Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega).

b) Selectarea regiunii genomice și designul de primeri

Primerii specifici pentru fiecare specie au fost selectati pe baza secvențelor disponibile în bazele de date genetice și literaturii de specialitate (Ballard și colab., 1998; Hildebrandt și colab., 2006; Malécot și colab., 2007; Mered'a și colab., 2011; Pornon și colab., 2016; Tamura și colab., 2021).

c) Protocol PCR

S-a utilizat GoTaq Green Master Mix (Promega) pe echipamentul Applied Biosystems SimpliAmp Thermal Cycler.

4. Cercetări morfo-anatomice asupra unor specii ale subgenului *Viola*

4.1. Grupul (subsectia) *Viola* (= *Uncinatae* Kupffer, *Scapigerae* W.Becker, *Curvato-pedunculatae* W.Becker)

4.1.1. Analize de morfometrie la taxoni ai speciilor *V. odorata* L., *V. suavis* Bieb., *V. alba* Bess.

Tabel 4.1. Indici morfometrici analizați la speciile *V. odorata* L., *V. suavis* Bieb., *V. alba* Bess.
(mm, valori medii $\pm$ deviație standard)

Morfometrie	<i>V.odorata</i>	<i>V. suavis</i>	<i>V.alba</i>
lungime (L) pețiol	26.54 $\pm$ 0.97	36.6 $\pm$ 0.32	27.33 $\pm$ 0.42
lungime (L) stipelă	10 $\pm$ 0	10.73 $\pm$ 0.16	11 $\pm$ 0.67
lățime (l) stipelă	2.53 $\pm$ 0.17	3.13 $\pm$ 0.37	1 $\pm$ 0
Raport L/l stipelă	4.11 $\pm$ 0.2	3.62 $\pm$ 0.3	11.00 $\pm$ 0.5
arie (A) limb	956.43 $\pm$ 26.74	684.67 $\pm$ 61.93	488.33 $\pm$ 22.93
lungime (L) limb	59.29 $\pm$ 2.53	60.63 $\pm$ 2.68	49.04 $\pm$ 4.24
lățime (l) limb	34.59 $\pm$ 0.97	26.99 $\pm$ 1.05	24.46 $\pm$ 1.69
perimetru (P) limb	210.44 $\pm$ 3.57	166.37 $\pm$ 9.13	147.85 $\pm$ 2.26
Raport L/l limb	1.70 $\pm$ 0.1	2.38 $\pm$ 0.2	2.13 $\pm$ 0.3
lungime (L) peduncul	61.07 $\pm$ 0.82	32.47 $\pm$ 0.39	53.4 $\pm$ 1.91
lungime (L) bractee	3.87 $\pm$ 0.2	4.73 $\pm$ 0.5	3.47 $\pm$ 0.1
lățime (l) bractee	0.65 $\pm$ 0.1	1.00 $\pm$ 0	0.50 $\pm$ 0.0
Raport L/l bractee	6.53 $\pm$ 0.6	4.73 $\pm$ 0.5	6.93 $\pm$ 0.3
lungime (L) floare	12.6 $\pm$ 0.51	10.84 $\pm$ 0.1	15 $\pm$ 0
lungime (L) sepala	5.13 $\pm$ 0.13	6 $\pm$ 0	4.2 $\pm$ 0.08
lățime (l) sepala	2.52 $\pm$ 0.08	2 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
Raport L/l sepală	2.08 $\pm$ 0.1	3.00 $\pm$ 0.0	4.20 $\pm$ 0.1

4.1.2. Analize de anatomie la taxoni ai speciilor *V. odorata* L., *V. suavis* Bieb., *V. alba* Bess.

Din punct de vedere anatomic, diferențele între aceste trei specii au fost următoarele:

- *rădăcină*: grosimea corpului lemnos, existența sau absența celulelor de parenchim lemnos celular, prezența sau absența peridermei; doar la *V. odorata* structura se menține primară, cu vizibili peri absorbanți la nivelul rizodermei.
- *rizom*: gradul de îngroșare a vaselor lemnoase, respectiv, prezența și frecvența celulelor de parenchim lemnos celulozic;
- *tulpină de tip scapus*: prezența (*V. alba*), respectiv absența în scoarță a cavităților aerifere; numărul fasciculelor conducătoare libero-lemnoase: 4 la *V. odorata*, 2 la *V. suavis*, 2 la *V. alba*;
- *limb foliar*: sunt prezenți peri tectori bicelulari la nivelul nervurilor limbului foliar, cu celula terminală foarte lungă la *V. odorata*, stomatele proemină deasupra nivelului extern al epidermei la *V. odorata* și *V. suavis*, la *V. alba* cuticula este groasă.

4.2. Grupul (subsecția) *Rostratae* Kupffer (W. Becker)

4.2.1. Analize de morfometrie la taxoni ai speciei *V. canina* L

Au fost analizați un număr de 10 indici morfometrici asociați frunzei (pețiol, stipelă și limb foliar) și tulpini aeriene. Pentru floare au fost luați în considerare un număr de 8 indici morfometrici.

4.2.2. Analize de anatomie la taxoni ai speciei *Viola canina* L.

- *rădăcină*: structura, tipic secundară, este rezultatul activității ambelor meristeme laterale: cambiumul și felogenul.
- *rizom*: structura este de origine secundară, dar cu o peridermă subțire și un cilindru central foarte gros. Măduva, extrem de subțire, parenchimatice-celulozică, în ea pătrund șiruri scurte de vase ale lemnului primar.

■ *tulpină aeriană*: conturul este semicircular, cu două creste adaxiale puțin proeminente și cu fața adaxială plană. Cilindrul central este gros, cuprinde 7-8 fascicule conducătoare libero- lemnoase de mărime diferită.

■ *frunza*:

Petiolul - contur este aproximativ eliptic modificat de două creste latero-adaxiale puternic divergente.

Limbul foliar – amfistomatic, nervura mediană proemină vizibil pe ambele fețe iar cele laterale de ordin I, doar la fața inferioară a limbului.

5. Cercetări morfo-anatomice asupra unor specii ale subgenului *Melanium*

5.1. Analize de morfometrie la taxoni ai speciilor *V. declinata* W. et. K., *V. dacica* Borbás, *V. arvensis* Murray, *V. kitaibeliana* Shult. și *V. tricolor* L.

Tabel 5.2. Indici morfometrici analizați la speciile *V. declinata* W. et. K., *V. dacica* Borbás, *V. arvensis* Murray, *V. kitaibeliana* Shult. și *V. tricolor* L. (mm, valori medii ± deviație standard)

Morfometrie	<i>V. dacica</i>	<i>V. declinata</i>	<i>V. arvensis</i>	<i>V. kitaibeliana</i>	<i>V. tricolor</i>
lungime (L) petiol	3.60± 0.2	2.40± 0.2	5.20± 0.4	5.07± 0.6	8.33± 0.9
lungime (L) stipelă	5.27± 0.1	4.80± 0.1	8.27± 0.4	9.07± 0.3	14.93± 1.0
lățime (l) a lobului terminal al stipelei	1.08± 0.0	1.00± 0.0	1.47± 0.1	1.53± 0.1	2.70± 0.3
arie (A) limb	149.45± 12.7	90.20± 4.2	178.93± 12.4	149.53± 12.2	180.07± 14.2
lungime (L) limb	29.11± 1.1	22.62± 1.7	30.13± 1.6	31.83± 1.0	28.77± 1.5
lățime (l) limb	10.24± 0.6	7.16± 0.5	10.31± 0.5	9.89± 0.6	11.46± 0.3
perimetru (P) limb	58.14± 4.3	47.71± 2.0	69.08± 3.2	57.95± 1.5	66.06± 3.1
Raport L/l limb	3± 0.2	3.72± 0.6	3.07± 0.3	3.31± 0.1	2.50± 0.1

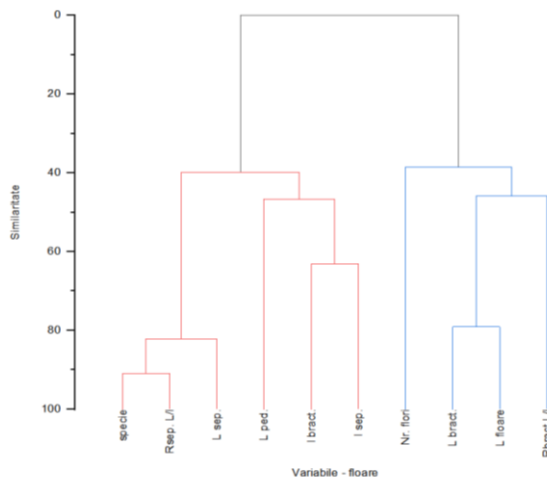


Figura 5. 1. Analiză multivariată de tip cluster pentru indici de morfometrie la floare pentru speciile *V. declinata* W. et. K., *V. dacica* Borbás, *V. arvensis* Murray, *V. kitaibeliana* Shult. și *V. tricolor* L.

5.2. Analize de anatomie la taxoni ai speciilor *V. declinata* W. et. K., *V. dacica* Borbás, *V. arvensis* Murray, *V. kitaibeliana* Shult. și *V. tricolor* L.

Din punct de vedere **anatomic**, particularitățile principale de diferențiere între aceste specii sunt următoarele:

- *rădăcină*: contur eliptic la *V. tricolor*, circular la celelalte specii;
- *rizom*: este prezent doar la *V. dacica* și *V. declinata*;
- *tulpină*: numărul fasciculelor conducătoare libero-lemnoase- 10 la *V. dacica*, 7 la *V. declinata*, 10 la *V. tricolor*, 8 la *V. arvensis*, 8 sau 9 la *V. kitaibeliana*;
- *pețiol*: *V. tricolor* are 7 fascicule conducătoare situate central și câte 3 în fiecare aripă adaxială; *V. arvensis* și *V. kitaibeliana* au câte 3 fascicule libero-lemnoase: unul central și câte unul în aripi; *V. dacica* are 7 centrale și *V. declinata*, 3 fascicule libero-lemnoase centrale.

6. Analiza cantitativă a pigmentilor asimilatori

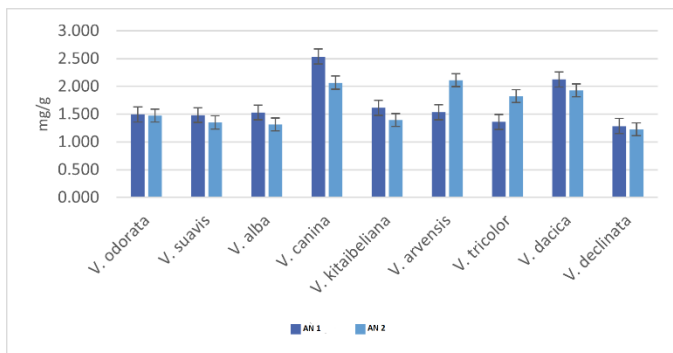


Figura 6.2. Exprimarea cantitativă totală a pigmenți asimilatori (clorofila a + clorofila b + pigmenți carotenoizi) pentru cei doi ani consecutivi (mg/g), la speciile analizate.

7. Analiza cantitativă totală a fenolilor

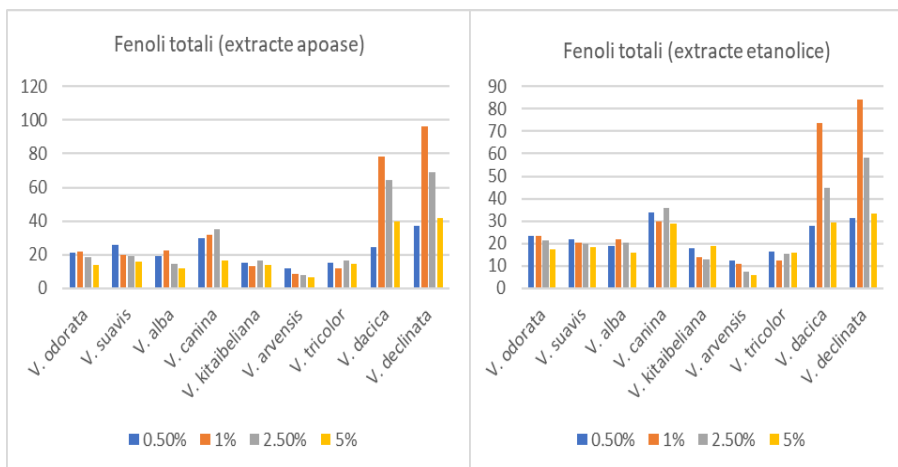


Figura 7.9. Cantitatea totală a polifenolilor determinată pentru extracte apoase și etanolice pentru concentrațiile de: 0,5%, 1%, 2,5%, respectiv 5%; pentru nouă specii ale genului *Viola* L. (exprimată în mg/g GAE/s.u.)

8. Analiza cantitativă totală a compușilor flavonoidici

Au fost analizate două tipuri de extracte, apoase și etanolice (50%), pentru fiecare realizându-se câte patru concentrații: 0,5% (m/v), 1% (m/v), 2,5% (m/v) și 5% (m/v). Valorile cele mai ridicate au fost înregistrate pentru speciile *V. canina* și *V. kitaibeliana*.

Realizând o comparație între cele două tipuri de extracte, se observă, o eficacitate crescută de extragere a compușilor flavonoidici totali pentru extractele etanolice. Valorile cele mai ridicate fiind înregistrate pentru extractele alcoolice realizate pentru *V. canina*: 101.12 ± 2.40 mg/g QE/s.u. (0,5%), 87.17 ± 0.73 mg/g QE/s.u. (1%), 97.61 ± 0.31 mg/g QE/s.u. (2,5%) și 80.78 ± 0.62 mg/g QE/s.u. (5%).

Cele mai mici valori, pentru toate concentrațiile la ambele tipuri de extracte, au fost observate, în principal, la specia *V. arvensis*.

9. Analiza cantitativă totală a pigmentilor antocianici

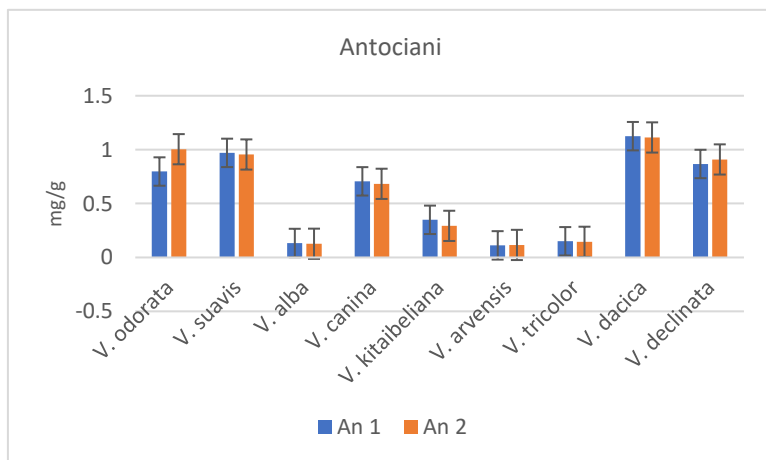


Figura 9.3. Grafic comparativ a valorilor medii obținute pentru compușii antocianici în urma analizelor realizate pentru nouă specii ale genului *Viola* L., în doi ani consecutivi (mg/g s.u.)

10. Determinarea capacității antioxidante

Testarea capacității antioxidante a extractelor vegetale a evidențiat o activitate semnificativă.

Valorile scăzute ale ratei de inhibiție au fost înregistrate la speciile recoltate din zone agricole, *V. arvensis* (~17%-24% pentru extractele apoase și ~18%-25% pentru extractele etanolice), și *V. tricolor* (~19-22% pentru extractele apoase și ~19%-29% pentru extractele etanolice).

Valorile cele mai mari ale ratei de inhibiție au fost de ~30%-47% pentru extractele apoase și ~46%-54% pentru extractele etanolice (*V. dacica*) și ~35%-63% pentru extractele apoase și ~44%-55% pentru extractele etanolice (*V. declinata*).

11. Taxonii genului *Viola* L., bioresurse cu potențial complex de valorificare

11.1. Bioresurse de compuși valoroși în industria farmaceutică și cosmetică

Cantitatea de polifenoli totali înregistrată analizând extractele apoase preparate experimental a prezentat valorile cele mai mari la speciile colectate din zonele de munte (*V. declinata*, *V. dacica*), cu valori cuprinse între 78-84 mg/g GAE/s.u. (extracte 1%). Cele mai scăzute valori înregistrate pentru extractele apoase au fost de 8-13 mg/g GAE/s.u. (1%), la speciile *V. arvensis* și *V. kitaibeliana*. Comparativ, analiza cantitativă a polifenolilor totali pentru extractele alcoolice, a evidențiat că cele mai mari valori au fost de 94-95 mg/g GAE/s.u. (1%) (*V. declinata*, *V. dacica*) iar cele mai mici au fost de 10-19 mg/g GAE/s.u. (1%) (*V. arvensis*, *V. kitaibeliana*).

Clasa de compuși polifenolici este recunoscută ca având proprietăți bactericide, antifungice, antiinflamatoare și, foarte important, antioxidante.

Pe baza rezultatelor obținute se poate întreprinde o analiză de ansamblu asupra potențialului de valorificare al anumitor specii de *Viola*.

11.2. Bioresurse cu impact ecologic

Acest gen conține taxoni care se dezvoltă în biocenoze deosebit de diferite, de la specii cosmopolite cu areal divers de creștere, până la specii endemice, cu cerințe stricte sau adaptate la condiții dificile de mediu. Adaptabilitatea unora dintre taxoni, precum *V. odorata* și *V. suavis*, le permite să se dezvolte pe habitate seminaturale sau modificate de activitatea umană, grădini sau parcuri (Ciocîrlan, 1988; Chifu și colab., 2001, 2006). Rezistența pe solurile poluate și mai ales acumularea respectivilor poluanți în corpul plantelor, oferă speciilor subgenului *Melanium* un rol major în activitățile de restaurare a ecosistemelor (Hermann și colab., 2013).

12. Discuții

12.1. Discriminarea speciilor pe baza indicilor morfometrici

Analiza morfologică a speciilor investigate a evidențiat caractere comune între specii, dar și elemente discriminatorii între acestea. Observațiile noastre sunt, în cea mai mare parte, în concordanță cu literatura de specialitate. Diferențele înregistrate se datorează faptului că speciile luate în studiu prezintă o variabilitate fenotipică crescută.

12.2. Discriminarea speciilor pe baza structurii anatomice

Structura anatomică generală este în concordanță cu descrierea realizată pentru genul *Viola*, în literatura de specialitate. Diferențele anatomice observate pot fi utile în completarea literaturii de specialitate pentru identificarea taxonilor prin mijloace microscopice.

12.3. Confirmarea taxonomică a speciilor

Confirmarea că taxonii analizați au fost corect identificați, a realizată o analiză moleculară a ADN-ului ribozomal nuclear.

12.4. Conținutul de pigmenți asimilatori

Conținutul de pigmenți asimilatori, precum și rata raportului între clorofilele a și b, sunt influențate de incidența luminoasă la suprafața frunzei, motiv pentru care cele mai mari valori au fost înregistrate la speciile speciile colectate din pajiști alpine și subalpine (*V. canina* și *V. dacica*).

12.5. Cantitatea totală de fenoli

Cantitatea de polifenoli totali înregistrată, analizând extractele alcoolice și apoase preparate experimental, a fost cea mai ridicată la speciile colectate din zonele de munte *V. declinata* și *V. dacica*, urmată îndeaproape de *V. canina*. Speciile colectate din zone agricole și pășuni semi-naturale, au prezentat cele mai mici valori (*V. arvensis*, *V. tricolor* și *V. kitaibeliana*).

În general, datele obținute experimental sunt similare cu cele prezentate în literatura de specialitate.

12.6. Cantitatea totală de flavonoide

Analiza cantitativă a flavonoidelor totale din extractele apoase și alcoolice preparate din plantele de *Viola* testate a evidențiat că valorile maxime au fost înregistrate la specia *V. canina*, iar valorile minime la specia *V. arvensis*.

Analizând similaritatea rezultatelor obținute cu cele din literatura de specialitate, valorile obținute de noi se corelează parțial cu datele publicate.

12.7. Cantitatea totală de pigmenți antocianici

Valorile ridicate obținute au fost prezente la speciile cu petale intens violet (*V. dacica*, *V. declinata*, *V. canina*) și albastru-violet (*V. odorata*, *V. suavis*). Rezultate obținute se corelează parțial cu datele publicate, fluctuația valorilor cantitative a compușilor antociani atât între specii cât și între populațiile aceleași specii, se poate datora recoltării din habitate diferite, calității solului sau a stresului hidric.

12.8. Evaluarea potențialului antioxidant

Speciile genului *Viola* conțin o cantitate semnificativă de compuși din clasa polifenolilor, motiv pentru care extractele realizate prezintă o capacitate ridicată antioxidantă. Valorile ratelor de inhibiție, pentru extractele apoase și etanolicе, au fost mari pentru speciile montane, și mai mici la speciile recoltate din zone agricole (*V. kitaibeliana*, *V. tricolor* și *V. arvensis*).

13.9. Evaluarea potențialului complex de valorificare al speciilor

Compușii polifenolici sunt recunoscuți în medicina modernă pentru efectele antiinflamatoare și antibacteriene, precum și datorită capacității lor puternic antioxidante, calități care au determinat utilizarea acestora ca adjuvanți în tratamentele unor multiple afecțiuni.

Din punct de vedere ecologic, speciile au o importanță semnificativă, atât ca plante cosmopolite, cu dezvoltare pe diferite substraturi, inclusiv pe soluri antropizate, cât și ca taxoni care ocupă habitate cu condiții de mediu dificile și poluate.

Concluzii

Cercetarea efectuată a avut ca obiectiv principal analiza taxonilor aparținând unui număr de nouă specii ale genului *Viola*, care se încadrează în subgenurile *Viola* și *Melanium*. Pornind de la aceste specii, scopul lucrării a fost de a îmbogăți literatura de specialitate cu date noi privind biologia unor taxoni aparținând acestui gen, prezenți în flora spontană din arealul geografic al Regiunii Nord-Estice a României.

- În analiza **parametrilor fitochimici** s-a pornit de la premisa că speciile genului *Viola* sunt apreciate în medicina tradițională la nivel internațional, motiv pentru care s-au realizat extracte apoase și etanolicе cu patru concentrații (0.5%, 1%, 2.5% și 5%) utilizând material vegetal uscat, măcinat mecanic. Datorită metodologiei de lucru aplicate, eficiența extragerii compușilor biochimici a fost limitată de tipul solventului și a concentrației alese. Diferența între valorile obținute practic și cele raportate în literatura de

specialitate se pot datora fie diferenței factorilor de mediu din zonele de habitat, fie perioadei de recoltare, fie combinației dintre aceste două premise.

- Analizele comparative a unor **parametri morfometrici** și de **anatomie** au evidențiat noi elemente care pot fi luate în considerare pentru discriminarea speciilor, datele obținute având un pronunțat caracter de noutate.
- **Parametrii fitochimici** analizați au fost: conținutul de *polifenoli*, *flavonoide*, *pigmenții antocianici* și *determinarea capacității antioxidante*. Rezultatele obținute au identificat în materialul vegetal analizat cantități importante din aceste clase de compuși. Pentru cantitatea totală de fenoli și flavonoide valori scăzute au fost determinate la speciile colectate din zone agricole: *V. arvensis*, *V. tricolor* și *V. kitaibeliana*, iar valori ridicate la speciile recoltate din zone montane: *V. declinata*, *V. dacica*, *V. canina*. Analiza cantitativă a pigmentilor antocianici a evidențiat valori scăzute la speciile cu flori albe, crem și galben-pal: *V. alba* și *V. arvensis*, iar valori ridicate au fost identificate la speciile cu flori violet: *V. declinata*, *V. dacica*, *V. canina*, *V. odorata* și *V. suavis*. Evaluarea potențialului antioxiant a evidențiat capacitatea antioxidantă atât a extractelor vegetale apoase, cât și a celor etanolicе, la acestea din urmă înregistrându-se valori mai ridicate, comparativ cu cele apoase. Rezultatele obținute au identificat în materialul vegetal analizat cantități semnificative din acești compuși cu **potențial pentru utilizare farmaceutică**.
- Rezultatele personale, cât și cele prezentate în literatura de specialitate, evidențiază **potențialul complex de valorificare** al speciilor genului *Viola*.
- Din punct de vedere **ecologic**, speciile genului *Viola* ocupă un număr divers de habitate, inclusiv cele de nișă, precum vegetație alpină de grohotiș, până la habitate antropizate realitate ce contribuie în mod direct și/sau indirect la sănătatea ecosistemelor, calitatea solului, creșterea calității covorului vegetal și a producției de biomasă disponibilă pentru insecte și erbivore. Rezistența pe solurile poluate și mai ales acumularea metalelor grele în organele vegetative, oferă speciilor genului *Viola* un rol major în depoluarea solului și în restaurarea ecosistemelor. Toate

aceste atribute dovedesc importanța deosebită a acestor specii, precum și necesitatea conservării lor.

- **Cercetările morfometrice** la speciile endemice (*V. declinata* și *V. dacica*) și de **anatomie** (*V. suavis*, *V. canina*), alături de identificarea indicilor morfometrici aplicabili pentru discriminarea speciilor analizate, precum și de cercetările privind compoziția chimică a taxonilor aparținând genului *Viola* colectați din Regiunea de Nord Est a României au un pronunțat **caracter de noutate**; acestea îmbogățesc literatura de specialitate națională cu informații valoroase pentru completarea cheilor de determinare taxonomică a taxonilor studiați, pentru fitochimiști și fitofarmacisti, precum și pentru specialiștii care acționează în direcția de protecție a mediului, angajați în efortul de conservare și de refacere a acestuia pe cale biologică.

Rezultatele obținute pot fi utilizate ca premise pentru **noi direcții de cercetare** în vederea aprofundării cunoștințelor referitoare la biologia speciilor genului *Viola* și pentru obținerea unei imagini mai detaliate asupra modului de interacțiune al taxonilor săi cu habitatele pe care le populează. Testarea biochimică a extractelor obținute din materialul vegetal analizat relevă importanța dezvoltării unor modele experimentale mai complexe pentru eficientizarea extragerii și izolării compușilor biologic activi de interes. De asemenea, extinderea analizelor pentru investigarea unui număr mai mare de biocompuși pot oferi informații necesare unor noi aplicații terapeutice ale taxonilor analizați. Evaluarea unor noi specii ale genului *Viola*, precum și a hibrizilor acestora, pot contribui la identificarea unor noi bioresurse cu potențial complex de valorificare și pot evidenția informații relevante referitoare la stadiul de conservare al genofondului vegetal românesc.

Mulțumiri

Omagiez memoria d-lui Academician Constantin TOMA (1935-2020) și îmi exprim recunoștința pentru sprijinul și îndrumarea acordată în activitatea de cercetare care a stat la baza realizării prezentei lucrări de doctorat.

Anexe – selecție



a.



b.



c.



d.



e.

Planșa nr. 7. *V. canina* L.: - a./c. M-ții Giupalău - lizieră pădure de foioase; b./d. M-ții Giupalău - pajiște cu ierburi scunde; 29.04.2021 - e. M-ții Rarău – pădure de conifere, 30.04.2021 (foto original)



Planșa nr. 8. *V. canina* L. - a. imagine generală, planta cu multiple tulpini aeriene, ierborizată; - b. imagine generală; - c. detaliu în care se observă stipelele; - d. frunză din partea superioară a tulpinii aeriene, cu stipele; - e./f. floarea (foto original)

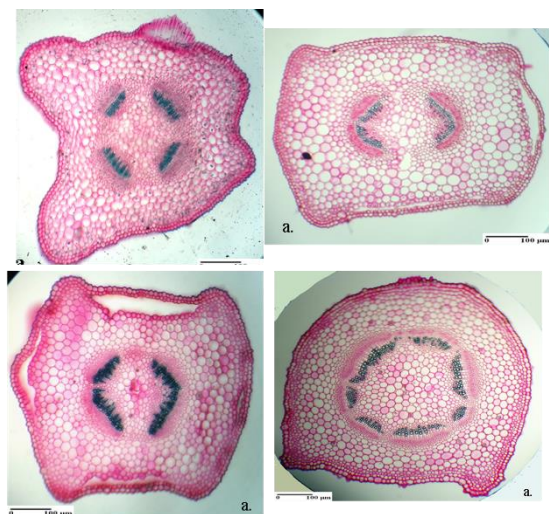


Figura. 10. Secțiune transversală prin pedunculul florifer: 1. *V. odorata* L., 2. *V. suavis* Bieb., 3. *V. alba* Bess., 4. Secțiune transversală prin tulpină la *V. canina* L.

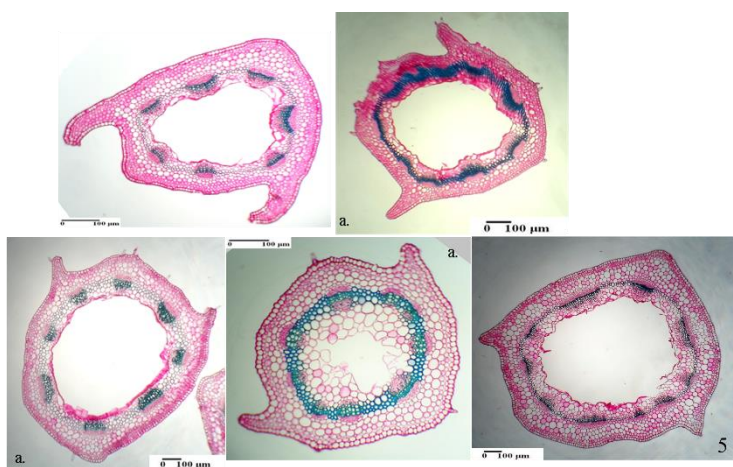


Figura. 11. Secțiune transversală prin tulpină la: 1. *V. declinata* Waldst. et Kit.; 2. *V. dacea* Borbás; 3. *V. arvensis* Murr.; 4. *V. kitaibeliana* Schult.; 5. *V. tricolor* L.

Anexa 2

Lista speciilor genului *Viola* L. în România

Pe teritoriul României s-au semnalat prezența a unui număr de 28 specii aparținând genului *Viola* L. (Sârbu și alții 2013):

1. *V. alba* Bess. [2 ssp] – viorele albe
2. *V. alpina* Jacq.
3. *V. ambigua* W. et K.
4. *V. arvensis* Murray (include *V. banatica* Kit. Ex Roem. et Schult.)
5. *V. biflora* L. – toporași galbeni
6. *V. canina* L. [3 ssp]
7. *V. collina* Bess.
8. *V. dacica* Borb. – unghia păsării
9. *V. declinata* W. et K. – unghia păsării
10. *V. elatior* Fr.
11. *V. epipsila* Ledeb.
12. *V. hymettia* Boiss. et Heldr.
13. *V. hirta* L. – tămâioară
14. *V. joói* Janka. - tămâioară
15. *V. jordanii* Hanry
16. *V. kitaibeliana* Schult.
17. *V. mirabilis* L. – viorele, toporași
18. *V. odorata* L. - toporași
19. *V. palustris* L. [1 ssp]
20. *V. persicifolia* Schreb. (= *V. stagnina* Kit.; *V. lactea* Auct.)
21. *V. pumila* Chaix
22. *V. reichenbachiana* Jord. Ex Boreau (= *V. sylvestris* Lam.) – colțunii popii
23. *V. riviniana* Rehb
24. *V. rupestris* F. W. Schm.
25. *V. sieheana* W. Becker
26. *V. suavis* Bieb. (= *V. cyanea* Čelak, *V. pontica* W. Becker, *V. ignobilis* Grinț.) – toporași
27. *V. tricolor* L. [2 subspp.] – trei frați pătați
28. *V. uliginosa* Bess. (prezența nu este sigură, reconfirmare necesară)

Bibliografie selectivă

1. Ardelean, M., Cachiță-Cosma, D., Ardelean, A., Lădașiu, F. C., Lobiuc, A., Zamfirache, M. M., & **Rosenhech, E.** (2017). Cytological aspects and anthocyanin accumulation observed in *Sedum telephium* ssp. *maximum* L. callus." 13125-13134.
2. Ballard H. E., Paula Souza J., Wahlert G. A. (2014). Violaceae. Pp. 303-322 In: Kubitzki, K. (ed.), The families and genera of vascular plants. Springer-Verlag, Berlin
3. Ballard H. E., Paula-Souza J., Seidel R. (2015 ["2014"]). Violaceae. Pp. 1353-1356 In: Jørgensen, P. M., M. Nee, S. Beck (eds.), Catálogo de las Plantas Vasculares de Bolivia, Monographs in Systematic Botany. Missouri Botanical Garden, St. Louis, MO.
4. Ballard Jr, H. E., Sytsma, K. J., & Kowal, R. R. (1999). Shrinking the violets: phylogenetic relationships of infrageneric groups in *Viola* (Violaceae) based on internal transcribed spacer DNA sequences. Systematic Botany, 439-458.
5. Ballard, H. E. (2015). Violaceae. Pp. 593-611 In: Hammel, B., M. Grayum, C. Herrera & N. Zamora (eds.), Manual de Plantas de Costa Rica. Missouri Botanical Garden, St. Louis, MO.
6. Ballard, H. E., Jr., Sytsma, K. J., & Kowal, R. R. (1998). *Viola arvensis* internal transcribed spacer 1, complete sequence (Accession No. AF097242). GenBank, National Center for Biotechnology Information.
7. Ballard, H. E., Jr., Sytsma, K. J., & Kowal, R. R. (1998). *Viola odorata* internal transcribed spacer 2, complete sequence (Accession No. AF097296). GenBank, National Center for Biotechnology Information.
8. Beldie Al. *Viola*. In: Savulescu T. editor. (1955). Flora Republicii Populare Române, Vol III, Editura Academiei Republicii Populare Române, p. 553-625
9. Bezlova, D., Tsvetkova, E., Karatoteva, D., & Malinova, L. (2012). Content of heavy metals and arsenic in medicinal plants from recreational areas in Bulgarka Nature Park. Genetics and Plant Physiology, 2(1/2), 64-72.
10. Blois M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 181, 1199 - 1200
11. Bojinescu, R. I., & Burescu, P. (2018). Phytocoenology and ecology of the *Nardus stricta* meadows edified by *Nardus stricta* and *Viola*

- declinata in Semenic Mountains. *Analele Universității din Oradea, Fascicula: Protecția Mediului*, 30, 107-116.
12. Boldor O., Raianu O., Trifu M. (1982). *Fiziologie vegetală. Lucrări practice*, Edit. Didactică și pedagogică, București: 5-8, 160-161
 13. Burescu, Ioan-Nuțu. L. (2015). Rare, endangered, vulnerable, endemic, relict plants and animals encompassing high conservation values for the forests of Vlădeasa mountains-the northern Apuseni mountains. *Analele Universității din Oradea, Fascicula Protecția Mediului* 25: 309-318
 14. Burnea, I., Popescu, I., Neamțu, G., Stancu, E., Lazăr, Ș. (1977), *Chimie și biochimie vegetală*, Edit. Didactică și Pedagogică, București, p.325-328
 15. Burzo Ioan. (1999). *Fiziologie vegetală: curs universitar*. Ed. Universității de Științe Agronomice și Medicină Veterinară, București
 16. Burzo, I. (2015). Radicalii liberi, rolul acestora și importanța substanțelor antioxidante din plante în menținerea sănătății umane. Ed. Elisaveros, București, p. 64-94, 109-110, 115-119
 17. Burzo, I., Simion, T., Crăciun, C., Voican, V., Dobrescu, A., Delian, E. (1999). *Fiziologia plantelor de cultură*. Vol. I, Întreprinderea Editorial Poligrafică Știința, Chișinău
 18. Butură, V. (1979). *Enciclopedie de etnobotanică românească*. Editura Științifică și Enciclopedică. Editura Științifică și Enciclopedică, București
 19. Cao, D. L., Zhang, X. J., Xie, S. Q., Fan, S. J., & Qu, X. J. (2022). Application of chloroplast genome in the identification of Traditional Chinese Medicine *Viola philippica*. *BMC genomics*, 23(1), 1-19.
 20. Castro-López, C., Ventura-Sobrevilla, J. M., González-Hernández, M. D., Rojas, R., Ascacio-Valdés, J. A., Aguilar, C. N., & Martínez-Ávila, G. C. (2017). Impact of extraction techniques on antioxidant capacities and phytochemical composition of polyphenol-rich extracts. *Food Chemistry*, 237, 1139-1148.
 21. Cesco, S., Mimmo, T., Tonon, G., Tomasi, N., Pinton, R., Terzano, R., Neumann, G., Weisskopf, L., Renella, G., Landi, L. and Nannipieri, P. (2012). Plant-borne flavonoids released into the rhizosphere: impact on soil bio-activities related to plant nutrition. A review. *Biology and Fertility of Soils*, 48, 123-149.

22. Cesco, S., Neumann, G., Tomasi, N., Pinton, R., & Weisskopf, L. (2010). Release of plant-borne flavonoids into the rhizosphere and their role in plant nutrition. *Plant and Soil*, 329, 1-25.
23. ÇetİN, M. (2016). Changes in the amount of chlorophyll in some plants of landscape studies. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 16(1), 239-245.
24. Chandra, D., Kohli, G., Prasad, K., Bisht, G., Punetha, V.D., Khetwal, K.S., Devrani, M.K., Pandey, H.K. (2015). Phytochemical and ethnomedicinal uses of family *Violaceae*. *Curr. Res. Chem*, 7, 44-52.
25. Chifu, T., Zamfirescu, O., Mânzu, C., & Şurubaru, B. (2001). *Botanică sistematică–Cormobionta*, Ed. Universităţii, „Alexandru Ioan Cuza”, Iaşi, 388-389.
26. Chifu, T.; Mânzu, Ciprian; Zamfirescu, Oana. (2006). *Flora şi vegetaţia Moldovei (României)*. Editura Universităţii “Alexandru Ioan Cuza”, Iaşi: 290-291
27. Chiriţoiu, M. (2007). Corologia plantelor rare şi vulnerabile din Carpaţii meridionali (2). In *Realizări şi perspective în horticultură, viticultură, vinificaţie şi silvicultură*” (Vol. 15, pp. 101-103).
28. Ciocîrlan, Vasile. (1988). *Flora ilustrată a României*, Vol. 1 *Determinarea şi descrierea speciilor spontane şi cultivate*. Editura Ceres: 9-58, 495-503
29. Coldea, G., Stoica, I. A., Puşcaş, M., Ursu, T., Oprea, A., & IntraBioDiv Consortium. (2009). Alpine–subalpine species richness of the Romanian Carpathians and the current conservation status of rare species. *Biodiversity and Conservation*, 18, 1441-1458.
30. Coombs E. R. (2003). *Violets: The history & cultivation of scented Violets*. BT. Batsford Publisher, a II-a ediţie, ISBN: 071348831 X (prima ediţie – 1981, Croom Helm Ltd.)
31. Creţu, R., Macovei, A., Băra, I. C., Ghiorghită, G., Verdeş, R., Iocob, E., Ionescu E. (2011). Physiological effects induced by the hydroalcoholic extract of *Viola tricoloris* herba (wild pansy aerial parts) on *Triticum aestivum* L., *Analele Ştiinţifice ale Universităţii „Alexandru Ioan Cuza”, Secţiunea Genetică şi Biologie Moleculară*, Tom XII: 125-132
32. Dakora, F. D. (1995). Plant flavonoids: biological molecules for useful exploitation. *Functional Plant Biology*, 22(1), 87-99.
33. Dalrymple, R. L., Kemp, D. J., Flores-Moreno, H., Laffan, S. W., White, T. E., Hemmings, F. A., & Moles, A. T. (2020).

- Macroecological patterns in flower colour are shaped by both biotic and abiotic factors. *New Phytologist*, 228(6), 1972-1985.
34. Dani, R. S., & Shrestha, K. K. (2004). Two new records of *Viola* L.(*Violaceae*) for Nepal. *Himalayan Journal of Sciences*, 2(3), 48-50.
 35. Danu, M. A., Chifu, T. (2008). Contributions to the study of the class *molinio-arhenatheretea* r. tx. 1937 in the upper basin of River Dorna (Suceava County) (i); *Analele științifice ale Universității "Al. I. Cuza" Iași*, s. II a. Biologie vegetală, Tomul LIV, fasc. 1: 136-145
 36. Dastagir, G., Bibi, S., Uza, N. U., Bussmann, R. W., & Ahmad, I. (2023). Microscopic evaluation, ethnobotanical and phytochemical profiling of a traditional drug *Viola odorata* L. from Pakistan. *Ethnobotany Research and Applications*, 25, 1-24.
 37. Dayani, L., Varshosaz, J., Aliomrani, M., Dinani, M. S., Hashempour, H., & Taheri, A. (2022). Morphological studies of self-assembled cyclotides extracted from *Viola odorata* as novel versatile platforms in biomedical applications. *Biomaterials Science*, 10(18), 5172-5186.
 38. Doniță, N., Paucă-Comănescu, M., Popescu, A., Mihăilescu, S., & Biriș, I. A. (2005). *Habitatele din România*. București: Editura Tehnică Silvică.
 39. Duțu, M., Ardelean, A., Ardelean, M., Cachiță-Cosma, D., Marian, B., Lobiuc, A., & **Rosenhech, E.** (2016). Increasing the antioxidant activity, total phenolic and assimilatory pigments content by optimizing the in vitro growth conditions of *Lycium barbarum* plant. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, Vol. XX, 2016, 44-50
 40. Eckstein, R. L., Hölzel, N., & Danihelka, J. (2006). Biological Flora of Central Europe: *Viola elatior*, *V. pumila* and *V. stagnina*. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 8(1), 45-66.
 41. Espeut, M. (2020). Revision of the genus *Viola* L.(*Violaceae*) in the Russian Far East with notes on adjacent territories. *Botanica Pacifica*, 9(1), 3-52.
 42. Farzad, M., Griesbach, R., Hammond, J., Weiss, M. R., & Elmendorf, H. G. (2003). Differential expression of three key anthocyanin biosynthetic genes in a color-changing flower, *Viola cornuta* cv. Yesterday, Today and Tomorrow. *Plant Science*, 165(6), 1333-1342.
 43. Fuleki T., Francis F. J. (1968). Quantitative methods for anthocyanins. *Journal of food science*, 33: 72–77

44. Gonçalves, A. F. K., Friedrich, R. B., Boligon, A. A., Piana, M., Beck, R. C. R., & Athayde, M. L. (2012). Anti-oxidant capacity, total phenolic contents and HPLC determination of rutin in *Viola tricolor* (L) flowers. *Free Radicals and Antioxidants*, 2(4), 32-37.
45. Hammami, I., Kamoun, N., & Rebai, A. (2011). Biocontrol of *Botrytis cinerea* with essential oil and methanol extract of *Viola odorata* L. flowers. *Arch. Appl. Sci. Res*, 3(5), 44-51.
46. Hashimoto, H., Uragami, C., & Cogdell, R. J. (2016). Carotenoids and photosynthesis. In *Carotenoids in nature: biosynthesis, regulation and function*, Stange, C., Ed.; Springer, Germany, 111-139.
47. Hayden, W. J., & Clough, J. (1990). Methyl salicylate secretory cells in roots of *Viola arvensis* and *V. rafinesquii* (Violaceae). *Castanea*, 65-70.
48. Hellinger, R., Koehbach, J., Fedchuk, H., Sauer, B., Huber, R., Gruber, C. W., & Gründemann, C. (2014). Immunosuppressive activity of an aqueous *Viola tricolor* herbal extract. *Journal of ethnopharmacology*, 151(1), 299-306.
49. Herald, T. J., Gadgil, P., & Tilley, M. (2012). High-throughput micro plate assays for screening flavonoid content and DPPH-scavenging activity in sorghum bran and flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(11), 2326-2331.
50. Hermann, B., Katarina, V. M., Paula, P., Matevž, L., Neva, S., Primož, P., Primož, V., Jeromel, L., & Marjana, R. (2013). Metallophyte status of violets of the section *Melanium*. *Chemosphere*, 93(9), 1844-1855.
51. Hildebrandt, U., Hoef Emden, K., Backhausen, S., Bothe, H., Bozek, M., Siuta, A., & Kuta, E. (2006). *Viola tricolor* subsp. *tricolor* clone a2 ITS1 5.8S ITS2 sequence (Accession No. DQ055406). GenBank, National Center for Biotechnology Information.
52. Hodálová, I., Mered'a Jr, P., Mártonfi, P., Mártonfiová, L., & Danihelka, J. (2008). Morphological characters useful for the delimitation of taxa within *Viola* subsect. *Viola* (Violaceae): a morphometric study from the West Carpathians. *Folia Geobotanica*, 43, 83-117.
53. Hodgson, J.G., Montserrat-Martí, G., Charles, M., Jones, G., Wilson, P., Shipley, B., Sharafi, M., Cerabolini, B.E.L., Cornelissen, J.H., Band, S.R. & Bogard, A. (2011). Is leaf dry matter content a better predictor of soil fertility than specific leaf area?. *Annals of botany*, 108(7), 1337-1345.

54. Hoyos Gomez. (2011). Towards an understanding of the basal evolution of Violaceae from an anatomical and morphological perspective. MSc thesis, University of Missouri – St. Louis, St. Louis MO
55. Hurdu, B. I., Pușcaș, M., Turtureanu, P. D., Niketić, M., Vonica, G., & Coldea, G. (2012). A critical evaluation of the Carpathian endemic plant taxa list from the Romanian Carpathians. *Contributii Botanice*, 47.
56. Ibraheem, R. M., Mhawesh, A. A., & Abood, K. W. (2018). Estimation of the whole flavonoid, antioxidant, antibacterial challenge concerning *Viola odorata* (banafsha) methanolic extract. *The Iraqi Journal of Agricultural Science*, 49(4), 655.
57. Jia, Z., Tang, M., & Wu, J. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chem*, 64(4), 555-559.
58. Jităreanu, C. D. (2002). *Fiziologie vegetală*. Editura “Ion Ionescu de la Brad”, Iași
59. Jonsell, B., & Karlsson, T. (2010). Lectotypification of two Linnaean names for *Flora Nordica* Vol. 6. *Nordic Journal of Botany*, 28(2), 129-129.
60. Jonsell, B., Ericsson, S., Fröberg, L., Rostański, K., Snogerup, S., & Widén, B. (2009). Nomenclatural notes to *Flora Nordica* Vol. 6 (*Thymelaeaceae–Apiaceae*). *Nordic Journal of Botany*, 27(2), 138-140.
61. Jurca, T., Pallag, A., Marian, E., & Eugenia, M., (2019). The histo-anatomical investigation and the polyphenolic profile of antioxidant complex active ingredients from three *Viola* species. *Farm. J*, 67, 634-640.
62. Karatoteva, D., Tsvetkova, E., & Bezlova, D. (2014). Heavy metals and arsenic in soils from grasslands in Bulgarka Nature Park. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 20(1), 73-78.
63. Karim, N., Khan, I., Abdelhalim, A., Khan, A., & Halim, S. A. (2018). Antidepressant potential of novel flavonoids derivatives from sweet violet (*Viola odorata* L): Pharmacological, biochemical and computational evidences for possible involvement of serotonergic mechanism. *Fitoterapia*, 128, 148-161.
64. Knudsen, J. T., Eriksson, R., Gershenzon, J., & Ståhl, B. (2006). Diversity and distribution of floral scent. *The botanical review*, 72(1), 1-120.

65. Koç, M. T., Dane, F., & Ekici, N. (2022). Comparative anatomical investigations on four *Viola* l.(*Violaceae*) taxa from European Turkey. In proceedings of IV. International agricultural, Biological & Life Science Conference Agbiol 2022, 322.
66. Li, Q., Wang, J., Sun, H. Y., & Shang, X. (2014). Flower color patterning in pansy (*Viola*× *wittrockiana* Gams.) is caused by the differential expression of three genes from the anthocyanin pathway in acyanic and cyanic flower areas. *Plant physiology and biochemistry*, 84, 134-141.
67. Linné Carl von, 1707-1778; translation by Freer Stephen - University of Oxford. (2003). *Linnaeus' Philosophia Botanica*. Oxford University Press Inc, New York: 78, 80-81, 85, 91, 108, 118, 120, 138, 161, 188-189, 252, 262, 287, 305.
68. Magrini, S., & Scoppola, A. (2015). Cytological status of *Viola kitaibeliana* (Section *Melanium*, *Violaceae*) in Europe. *Phytotaxa*, 238(3), 288-292.
69. Magrini, S., & Zucconi, L. (2020). Seed germination of the endangered *Viola kitaibeliana* and other Italian annual pansies (*Viola* Section *Melanium*, *Violaceae*). *Flora*, 30, 425.
70. Mahboubi, M., & Kashani, L. M. T. (2018). A Narrative study about the role of *Viola odorata* as traditional medicinal plant in management of respiratory problems. *Advances in Integrative Medicine*, 5(3), 112-118.
71. Malécot, V., Marcussen, T., Munzinger, J., Yockteng, R., & Henry, M. (2007). *Viola alba* subsp. *alba* voucher MH 043220 internal transcribed spacer 1, complete sequence (Accession No. DQ358849). GenBank, National Center for Biotechnology Information.
72. Marcussen T. (2003). Evolution, phylogeography and taxonomy within the *Viola alba* complex (*Violaceae*). *Plant Systematics and Evolution*, Austria, 237: 51-74
73. Marcussen T.; Nordal, I. (1998). *Viola suavis*, a new species in the Nordic flora, with analyses of its relation to other species in the subsection *Viola* (*Violaceae*). *Nordic Journal of Botany*18: 221-237
74. Marcussen, T., & Borgen, L. (2000). Allozymic variation and relationships within *Viola* subsection *Viola* (*Violaceae*). *Plant Systematics and Evolution*, 223, 29-57.
75. Marcussen, T., Ballard, H. E., Danihelka, J., Flores, A. R., Nicola, M. V., & Watson, J. M. (2022). A revised phylogenetic classification for *Viola* (*Violaceae*). *Plants*, 11(17), 2224.

76. Marcussen, T., Borgen, L., & Nordal, I. (2005). New distributional and molecular information call into question the systematic position of the West Asian *Viola sintenisii* (Violaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 147(1), 91-98.
77. Marcussen, T., Heier, L., Brysting, A. K., Oxelman, B., & Jakobsen, K. S. (2015). From gene trees to a dated allopolyploid network: insights from the angiosperm genus *Viola* (Violaceae). *Systematic biology*, 64(1), 84-101.
78. Marcussen, T., Jakobsen, K. S., Danihelka, J., Ballard, H. E., Blaxland, K., Brysting, A. K., & Oxelman, B. (2012). Inferring species networks from gene trees in high-polyploid North American and Hawaiian violets (*Viola*, Violaceae). *Systematic biology*, 61(1), 107-126.
79. Mayers, A. M., & Lord, E. M. (1983). Comparative flower development in the cleistogamous species *Viola odorata*. I. A growth rate study. *American Journal of Botany*, 70(10), 1548-1555.
80. Mehrvarz, S. S., Vafi, M., & Marcussen, T. (2013). Taxonomic and anatomical notes on *Viola* sect. *Viola* (Violaceae) in Iran. *Wulfenia*, 20, 73-79.
81. Mered'a JR, P., Hodalova, I., Kučera, J., Zozomova-Lihova, J., Letz, D. R., & Slovak, M. (2011). Genetic and morphological variation in *Viola suavis* sl (Violaceae) in the western Balkan Peninsula: two endemic subspecies revealed. *Systematics and Biodiversity*, 9(3), 211-231.
82. Mered'a Jr, P., Hodálová, I., Mártonfi, P., Kučera, J., & Lihová, J. (2008). Intraspecific variation in *Viola suavis* in Europe: parallel evolution of white-flowered morphotypes. *Annals of Botany*, 102(3), 443-462.
83. Mereda, P., Jr., Hodalova, I., Kucera, J., Zozomova Lihova, J., Letz, D. R., & Slovak, M. (2011). *Viola suavis* isolate 247d ITS1 5.8S ITS2 sequence (Accession No. JF683833). GenBank, National Center for Biotechnology Information.
84. Metcalfe C.R. & Chalk L. (1950). *Anatomy of the Dicotyledons*. Vol. 1. – Oxford: Clarendon Press
85. Mohammadi Shahrestani, M., Saeidi Mehrvarz, S., Marcussen, T., & Yousefi, N. (2014). Taxonomy and comparative anatomical studies of *Viola* sect. *Sclerosium* (Violaceae) in Iran. *Acta botanica gallica*, 161(4), 343-353.

86. Moliner, C., Barros, L., Dias, M.I., Reigada, I., Ferreira, I.C., López, V., Langa, E. and Rincón, C.G. (2019). *Viola cornuta* and *Viola x wittrockiana*: Phenolic compounds, antioxidant and neuroprotective activities on *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 27(4), 849-859.
87. Molyneux P. (2003). The use of the stable free radical diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26(2):211-219
88. Muhammad, N., Saeed, M., Aleem, A., & Khan, H. (2012). Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological profile of genus *Viola*. *Phytopharmacology*, 3(1), 214-26.
89. Muriithi, A. N., Wamocho, L. S., & Njoroge, J. B. M. (2009). Effect of pH and magnesium on colour development and anthocyanin accumulation in tuberose florets. *African Crop Science Conference Proceedings*, Vol. 9. pp. 227-234.
90. Oprea, A. (2005). Lista critică a plantelor vasculare din România. Editura Universității „Alexandru Iona Cuza” Iași: 222 – 227
91. Padureanu, S. (2007). Characterization of morphology and germination capacity in *Viola odorata* L. pollen. *Analele Stiintifice ale Universitatii "Al. I. Cuza" din Iasi*, 53, 70.
92. Padureanu, S. (2007). Cytology of *Viola odorata* L. pollen germination. *Analele Stiintifice ale Universitatii "Al. I. Cuza" din Iasi*, 53, 60.
93. Pană, S., Cojuhari, T., Bacalov, I., Fărâmbă, V., & Topal, N. (2012). Compoziția chimică a plantelor medicinale din grădina botanică a muzeului național de etnografie și istorie naturală. Ghid teoretico-informativ de specialitate. *Buletin Științific. Revista de Etnografie, Științele Naturii și Muzeologie (Serie Nouă)*, 29(16), 104-127.
94. Parekh, J., Jadeja, D., & Chanda, S. (2005). Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antibacterial activity. *Turkish Journal of Biology*, 29(4), 203-210.
95. Pilberg, C., Ricco, M. V., & Alvarez, M. A. (2016). Foliar anatomy of *Viola maculata* growing in Parque Nacional Los Alerces, Chubut, Patagonia, Argentina. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26, 459-463.
96. Pornon, A., Escaravage, N., Burrus, M., Holota, H., Khimoun, A., Andalo, C. (2016). *Viola canina* 18S rRNA gene and internal transcribed spacer 1 region (Accession No. KU974083). GenBank, National Center for Biotechnology Information.

97. Pr nting, M., L  v, C., Burman, R., G ransson, U. L. F., & Andersson, D. I. (2010). The cyclotide cycloviolacin O2 from *Viola odorata* has potent bactericidal activity against Gram-negative bacteria. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 65(9), 1964-1971.
98. Ramassamy, C. (2006). Emerging role of polyphenolic compounds in the treatment of neurodegenerative diseases: a review of their intracellular targets. *Eur J Pharmacol* 545:51–64
99. Rimkiene, S., Ragazinskiene, O., & Savickiene, N. (2003). The cumulation of Wild pansy (*Viola tricolor* L.) accessions: the possibility of species preservation and usage in medicine. *Medicina (Kaunas)*, 39(4), 411-6.
100. Roberts, M. J. (2000). Edible & medicinal flowers. New Africa Books. New Africa Books: 58, 79
101. **Rosenhech, E.**, Lobiuc, A., & Zamfirache, M.-M. (2016). Phenolic contents and antioxidant activity in *Viola odorata* L., *V. tricolor* L. and *V. arvensis* (L.) Murray. *Analele Stiintifice ale Universitatii" Al. I. Cuza" din Iasi*, 62(1), 132-133.
102. **Rosenhech, E.**, Lobiuc, A., & Zamfirache, M.-M. - ( n curs de publicare) - The phytochemical potential of *Viola* L. species, *Viola* subgenus; *International Journal of Molecular Sciences*
103. **Rosenhech, E.**, Lobiuc, A., & Zamfirache, M.-M. ( n curs de publicare) - The phytochemical potential of *Viola* L. species, *Melanium* subgenus, subsect. *Bracteolatae*; *International Journal of Molecular Sciences*
104. **Rosenhech E.**, Lobiuc A., Boz I., Zamfirache M.-M., (2022) - Morpho-anatomical basis of discrimination between three *Viola* species; *Studia Universitatis „Vasile Goldi ” Seria  tiin ele Vietii (Life Science Series)*, Vol. 32, issue 3.
105. Rubin, G., & Paolillo Jr, D. J. (1978). Vascular and general anatomy of the rootstocks of three stemless *Viola* species. *Annals of Botany*, 42(4), 981-988.
106. Saint-Lary, L., Roy, C., Paris, J. P., Tournayre, P., Berdagu , J. L., Thomas, O. P., & Fernandez, X. (2014). Volatile compounds of *Viola odorata* absolutes: identification of odorant active markers to distinguish plants originating from France and Egypt. *Chemistry & Biodiversity*, 11(6), 843-860.

- 107.Sârbu, I., Ștefan, N., & Oprea, A. (2013). Plante vasculare din România: determinant ilustrat de teren. Victor B victor. București: 452-460
- 108.Sârbu, I., Ștefan, N., Ivănescu, L., & Mânzu, C. (2001). Flora ilustrată a plantelor vasculare din estul României, II. Edit. Univ.“Al. I. Cuza” Iași. Book Review, 284-297.
- 109.Scoppola, A., & Lattanzi, E. (2012). *Viola* section *Melanium* (Violaceae) in Italy. New data on morphology of *Viola tricolor*-Group. *Webbia*, 67(1), 47-64.
- 110.Scoppola, A., Angeloni, D., & Franceschini, C. (2022). Classical morphometrics in *V. arvensis* and *V. kitaibeliana* (*Viola* sect. *Melanium*) reveals intraspecific variation with implications for species delimitation: Inferences from a case study in Central Italy. *Plants*, 11(3), 379.
- 111.Siatka, T., Kašparová, M. (2010). Seasonal variation in total phenolic and flavonoid contents and DPPH scavenging activity of *Bellis perennis* L. flowers. *Molecules*, 15:9450-9461
- 112.Simić, S., Aćimović, M., Vidović, S., Banožić, M., & Vladić, J. (2021). *Viola odorata*: Influence of supercritical fluid extraction on the efficiency of ultrasound-and microwave-assisted extraction of bioactive compounds. *Croatian journal of food science and technology*, 13(2), 191-200.
- 113.Słomka, A., Libik-Konieczny, M., Kuta, E., & Miszalski, Z. (2008). Metalliferous and non-metalliferous populations of *Viola tricolor* represent similar mode of antioxidative response. *Journal of plant physiology*, 165(15), 1610-1619.
- 114.Słomka, A., Sutkowska, A., Szczepaniak, M., Malec, P., Mitka, J., & Kuta, E. (2011). Increased genetic diversity of *Viola tricolor* L.(Violaceae) in metal-polluted environments. *Chemosphere*, 83(4), 435-442.
- 115.Soare, L. C., Ferdeș, M., Dobrescu, C.-M. (2011). Species with potential for anthocyanins extraction in Argeș County flora. *Muzeul Olteniei Craiova. Oltenia. Studii și comunicări. Științele Naturii*. Tom. 27, No. 2
- 116.Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>

117. Terashima, I., Miyazawa, S. I., & Hanba, Y. T. (2001). Why are sun leaves thicker than shade leaves?—Consideration based on analyses of CO₂ diffusion in the leaf. *Journal of plant research*, 114, 93-105.
118. Terzano, R., Cuccovillo, G., Gattullo, C.E., Medici, L., Tomasi, N., Pinton, R., Mimmo, T. and Cesco, S. (2015). Combined effect of organic acids and flavonoids on the mobilization of major and trace elements from soil. *Biology and fertility of soils*, 51, 685-695.
119. Togor, G. C., & Burescu, P. (2013). Species-rich *Nardus* grasslands from the northern part of the Bihor Mountains. *Studia Universitatis" Vasile Goldis" Arad. Seria Stiintele Vietii (Life Sciences Series)*, 23(4), 505.
120. Toiu A, Oniga I, Tămaș M. (2009). Cercetări morfologice și anatomice asupra speciei *Viola tricolor* L. (Violaceae). *Revista medico-chirurgicala a Societatii de Medici si Naturalisti din Iasi*, 113 (2, suppl. 4): 459-464.
121. Toiu, A., Oniga, I., & Tămaș, M. (2010). Morphological and anatomical researches on *Viola arvensis* Murray (Violaceae). *Farmacia*, 58(5), 654-659.
122. Toiu, A., Oniga, I., & Vlase, L. (2017). Determination of flavonoids from *Viola arvensis* and *V. declinata* (Violaceae). *Hop and Medicinal Plants*, 25(1/2), 125-130.
123. Toma, C. (2003). *Morfologia și anatomia plantelor. Manual de lucrări practice*. Ediția a 2-a revizuită și îmbunătățită, Edit. Universității Universitatii" Al. I. Cuza" din Iasi.
124. Toma, C., & Ivanescu, L. (2013). *Plante vasculare din România. Determinator ilustrat de teren (Vascular plants of Romania. An illustrated field guide)*. *Analele Stiintifice ale Universitatii" Al. I. Cuza" din Iasi*, 59(2), 109.
125. Tomescu, C. V., & Harasemciuc, T. I. (2018). Flora vasculară a rezervației” Codrul secular Loben”—județul Suceava. In *Horticultură, Viticultură și vinificație, Silvicultură și grădini publice, Protecția plantelor*, Vol. 47, pp. 427-434.
126. Tomović, G., Đurović, S., Buzurović, U., Niketić, M., Milanović, Đ., Mihailović, N., & Jakovljević, K. (2021). Accumulation of potentially toxic elements in *Viola* L.(Sect. *Melanium* Ging.) from the ultramafic and non-ultramafic soils of the Balkan Peninsula. *Water, Air, & Soil Pollution*, 232, 1-18.

127. Trusov, N. A. (2014). Aril morpho-anatomical structure and development of *Viola odorata* L. (Violaceae). *Modern Phytomorphology*, (6), 141-142.
128. Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M., Webb, D.A. (1968). *Flora Europaea*, Vol 2 Rosaceae to Umbeliferae; At the University Press, Cambridge: 553-625
129. Vile, D., Garnier, E., Shipley, B., Laurent, G., Navas, M.L., Roumet, C., Lavorel, S., Diaz, S., Hodgson, J.G., Lloret, F., & Midgley, G.F. (2005). Specific leaf area and dry matter content estimate thickness in laminar leaves. *Annals of botany*, 96(6), 1129-1136.
130. Vukics, V., Hevesi Toth, B., Ringer, T., Ludanyi, K., Kery, A., Bonn, G. K., & Guttman, A. (2008b). Quantitative and qualitative investigation of the main flavonoids in heartsease (*Viola tricolor* L.). *Journal of chromatographic science*, 46(2), 97-101.
131. Vukics, V., Kery, A., Bonn, G. K., & Guttman, A. (2008a). Major flavonoid components of heartsease (*Viola tricolor* L.) and their antioxidant activities. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 390, 1917-1925.
132. Watson, J. M., Flores, A. R., Nicola, M. V., & Marcussen, T. (2021). *Viola* subgenus *Andinium*, preliminary monograph. Scottish Rock Garden Club with International Rock Gardener, 1-215.
133. Watson, L., Dallwitz, M.J. (1992). The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval; Version: 19th October 2013; <http://delta-intkey.com>. accesat în martie 2018
134. Wellburn, A. R. (1994). The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of plant physiology*, 144(3), 307-313.
135. Wiklund, C. (1984). Egg-laying patterns in butterflies in relation to their phenology and the visual apparency and abundance of their host plants. *Oecologia*, 23-29.
136. Winkel-Shirley, B. (2002). Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current opinion in plant biology*, 5(3), 218-223.
137. Witkowska-Banaszczak, E., Bylka, W., Matławska, I., Goślińska, O., & Muszyński, Z. (2005). Antimicrobial activity of *Viola tricolor* herb. *Fitoterapia*, 76(5), 458-461.

138. Wrolstad, R. E., Durst, R. W., & Lee, J. (2005). Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science & Technology*, 16(9), 423-428.
139. Yockteng, R., Jr Ballard, H. E., Mansion, G., Dajoz, I., & Nadot, S. (2003). Relationships among pansies (*Viola* section *Melanium*) investigated using ITS and ISSR markers. *Plant Systematics and Evolution*, 241, 153-170.
140. Yousefi, N., Mehrvarz, S. S., & Marcussen, T. (2012). Anatomical studies on selected species of *Viola* (Violaceae). *Nordic Journal of Botany*, 30(4), 461-469.
141. Yousefi, N., Sajedi, R. H., Marcussen, T., Saeidi Mehrvarz, S. (2010). *Viola kitaibeliana* ITS1 5.8S rRNA partial sequence (Accession No. HM756253). GenBank, National Center for Biotechnology Information.
142. Zamfirache MM. (2005). *Fiziologie vegetală*. 1, Edit. Azimuth, Iași, p. 20-21, 72-83
143. Zamfirache, MM., Stratu, A., Olteanu, Z., Galeș, R. (1997). *Fiziologie vegetală – Ghid de lucrări practice*". Edit. Universității Alexandru Ioan Cuza", Iași, Cap. 7, pag. 4-5
144. Zarrabi, M., Dalirfardouei, R., Sepehrizade, Z., & Kermanshahi, R. K. (2013). Comparison of the antimicrobial effects of semipurified cyclotides from Iranian *Viola odorata* against some of plant and human pathogenic bacteria. *Journal of applied microbiology*, 115(2), 367-375.
145. Zhang, J., Wang, L. S., Gao, J. M., Xu, Y. J., Li, L. F., & Li, C. H. (2012). Rapid separation and identification of anthocyanins from flowers of *Viola yedoensis* and *V. prionantha* by high-performance liquid chromatography–photodiode array detection–electrospray ionisation mass spectrometry. *Phytochemical Analysis*, 23(1), 16-22.
146. Zhou, Y., Zheng, J., Li, Y., Xu, D. P., Li, S., Chen, Y. M., & Li, H. B. (2016). Natural polyphenols for prevention and treatment of cancer. *Nutrients*, 8(8), 515.
147. Zimniewska, M., Pawlaczyk, M., Krucinska, I., Frydrych, I., Mikolajczak, P., Schmidt-Przewozna, K., Komisarczyk, A., Herczynska, L., Romanowska, B. (2019). The influence of natural functional clothing on some biophysical parameters of the skin. *Textile Research Journal*, 89(8), 1381-1393.