

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

**Cercetări privind biologia unor specii de plante cu potențial
medicinal din flora spontană**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC:

Profesor dr. Emerit

Maria-Magdalena Zamfirache

STUDENT-DOCTORAND:

Bota Viviane Beatrice

IAȘI

2026

CUPRINS

CUVINTE CHEIE

LISTA ABREVIERILOR

INTRODUCERE

SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII

PARTEA I-A: STADIU ACTUAL AL CUNOAȘTERII

CAPITOLUL 1.

ISTORICUL CERCETĂRIILOR PRIVIND BIOLOGIA SPECIILOR LUATE ÎN STUDIU

- 1.1. Biologia speciei *Tussilago farfara* L. - istoricul cercetărilor
 - 1.1.1. Utilizare
 - 1.1.2. Cercetări farmacologice și farmacocinetice
 - 1.1.3. Compoziție chimică
 - 1.1.4. Conținut de alcaloizi pirolizidinici și toxicitatea speciei
 - 1.1.5. Potențial antioxidant și antiinflamator
- 1.2. Biologia speciei *Geranium robertianum* L. - istoricul cercetărilor
 - 1.2.1. Utilizare
 - 1.2.2. Cercetări farmacologice și farmacocinetice
 - 1.2.3. Compoziție chimică
 - 1.2.4. Potențial antioxidant și antiinflamator
- 1.3. Biologia speciei *Leonurus cardiaca* L. - istoricul cercetărilor
 - 1.3.1. Utilizare
 - 1.3.2. Cercetări farmacologice și farmacocinetice
 - 1.3.3. Compoziție chimică
 - 1.3.4. Potențial antioxidant și antiinflamator
- 1.4. Biologia speciei *Oenothera biennis* L. - istoricul cercetărilor
 - 1.4.1. Utilizare
 - 1.4.2. Cercetări farmacologice și farmacocinetice
 - 1.4.3. Compoziție chimică
 - 1.4.4. Potențial antioxidant și antiinflamator

CAPITOLUL 2.

CARACTERIZARE GENERALĂ A SPECIILOR LUATE ÎN STUDIU

- 2.1. Caracterizare botanică a speciei *Tussilago farfara* L.
 - 2.1.1. Încadrare taxonomică
 - 2.1.2. Caracteristici morfologice ale speciei *Tussilago farfara* L.
 - 2.1.3. Caracteristici anatomice ale speciei *Tussilago farfara* L.
 - 2.1.3.1. Aspecte de structură
 - 2.1.3.2. Aspecte de ultrastructură
 - 2.1.4. Distribuție și habitat
- 2.2. Caracterizare botanică a speciei *Geranium robertianum* L.
 - 2.2.1. Încadrare taxonomică
 - 2.2.2. Caracteristici morfologice ale speciei *Geranium robertianum* L.
 - 2.2.3. Caracteristici anatomice ale speciei *Geranium robertianum* L.
 - 2.2.3.1. Aspecte de structură
 - 2.2.3.2. Aspecte de ultrastructură
 - 2.2.4. Distribuție și habitat
- 2.3. Caracterizare botanică a speciei *Leonurus cardiaca* L.
 - 2.3.1. Încadrare taxonomică
 - 2.3.2. Caracteristici morfologice ale speciei *Leonurus cardiaca* L.
 - 2.3.3. Caracteristici anatomice ale speciei *Leonurus cardiaca* L.
 - 2.3.3.1. Aspecte de structură și ultrastructură
 - 2.3.4. Distribuție și habitat
- 2.4. Caracterizare botanică a speciei *Oenothera biennis* L.
 - 2.4.1. Încadrare taxonomică
 - 2.4.2. Caracteristici morfologice ale speciei *Oenothera biennis* L.
 - 2.4.3. Caracteristici anatomice ale speciei *Oenothera biennis* L.
 - 2.4.3.1. Aspecte de structură
 - 2.4.3.2. Aspecte de ultrastructură
 - 2.4.4. Distribuție și habitat

PARTEA A II-A: CONTRIBUȚII PERSONALE

CAPITOLUL 3.

MATERIALE ȘI METODE DE LUCRU

- 3.1. Recoltarea și prelucrarea materialului vegetal
- 3.2. Examinare microscopică a materialului vegetal
 - 3.2.1. Microscopie optică
 - 3.2.2. Microscopie electronică de baleiaj (SEM)
 - 3.2.3. Microscopie electronică de transmisie (TEM)
- 3.3. Analiza compoziției fitochimice a materialului vegetal
 - 3.3.1. Prepararea extractelor vegetale
 - 3.3.1.1. Prepararea extractelor hidroalcoolice
 - 3.3.1.2. Prepararea extractelor apoase (infuzie)
 - 3.3.2. Metoda spectrometriei de masă prin cromatografie lichidă (LC/MS)
- 3.4. Analiza condițiilor pedoclimatice din ariile de recoltare
 - 3.4.1. Analiza condițiilor de sol
 - 3.4.2. Analiza condițiilor climatice
 - 3.4.2.1. Altitudine
 - 3.4.2.2. Temperatură și precipitații
- 3.5. Analiză statistică a datelor

CAPITOLUL 4.

EVALUAREA FACTORILOR DE MEDIU

- 4.1. Altitudine și habitat
- 4.2. Condiții climatice
 - 4.2.1. Temperatură medie anuală
 - 4.2.2. Temperatură medie din luna ianuarie și din luna iulie
 - 4.2.3. Temperaturi maxime și minime
 - 4.2.4. Precipitații anuale cumulate
- 4.2.5. Zile fără îngheț
- 4.3. Condiții edafice

CAPITOLUL 5.

CERCETĂRI MORFO-ANATOMICE ȘI FITOCHIMICE LA SPECIA *TUSSILAGO FARFARA* L.

- 5.1. Cercetări morfo-anatomice asupra organelor vegetative la specia *Tussilago farfara* L. prin tehnici de microscopie optică
 - 5.1.1. Anatomia rădăcinii adventive la specia *Tussilago farfara* L.
 - 5.1.2. Anatomia rizomului la specia *Tussilago farfara* L.
 - 5.1.3. Anatomia pețiolului la specia *Tussilago farfara* L.
 - 5.1.4. Anatomia limbului foliar la specia *Tussilago farfara* L.
- 5.2. Cercetări morfo-anatomice asupra organelor vegetative la specia *Tussilago farfara* L. prin tehnici de microscopie electronică de baleiaj (SEM)
 - 5.2.1. Micromorfologia rizomului la specia *Tussilago farfara* L.
 - 5.2.2. Micromorfologia pețiolului la specia *Tussilago farfara* L.
 - 5.2.3. Micromorfologia limbului foliar la specia *Tussilago farfara* L.
- 5.3. Cercetări morfo-anatomice asupra organelor vegetative la specia *Tussilago farfara* L. prin tehnici de microscopie electronică de transmisie (TEM)
 - 5.3.1. Ultrastructura rizomului la specia *Tussilago farfara* L.
 - 5.3.2. Ultrastructura pețiolului la specia *Tussilago farfara* L.
 - 5.3.3. Ultrastructura limbului foliar la specia *Tussilago farfara* L.
- 5.4. Analiza compoziției fitochimice a speciei *Tussilago farfara* L.
 - 5.4.1. Compoziția fitochimică a extractelor hidroalcoolice de *Tussilago farfara* L.
 - 5.4.2. Compoziția fitochimică a extractelor apoase de *Tussilago farfara* L.
- 5.5. Analiza comparativă a conținutului de polifenoli din extractele de *Tussilago farfara* L. în contextul factorilor de mediu
- 5.6. Considerații privind caracterele morfo-anatomice și compoziția fitochimică a organelor vegetative la specia *Tussilago farfara* L.

CAPITOLUL 6.

CERCETĂRI MORFO-ANATOMICE ȘI FITOCHIMICE LA SPECIA *GERANIUM ROBERTIANUM* L.

- 6.1. Cercetări morfo-anatomice asupra organelor vegetative la specia *Geranium robertianum* L. prin tehnici de microscopie optică

- 6.1.1. Anatomia rădăcinii adventive la specia *Geranium robertianum* L.
- 6.1.2. Anatomia rizomului la specia *Geranium robertianum* L.
- 6.1.3. Anatomia tulpinii aeriene la specia *Geranium robertianum* L.
- 6.1.4. Anatomia pețiolului la specia *Geranium robertianum* L.
- 6.1.5. Anatomia limbului foliar la specia *Geranium robertianum* L.
- 6.2. Cercetări morfo-anatomice asupra organelor vegetative la specia *Geranium robertianum* L. prin tehnici de microscopie electronică de baleiaj (SEM)
 - 6.2.1. Micromorfologia rizomului la specia *Geranium robertianum* L.
 - 6.2.2. Micromorfologia tulpinii aeriene la specia *Geranium robertianum* L.
 - 6.2.3. Micromorfologia pețiolului la specia *Geranium robertianum* L.
 - 6.2.4. Micromorfologia limbului foliar la specia *Geranium robertianum* L.
- 6.3. Cercetări morfo-anatomice asupra organelor vegetative la specia *Geranium robertianum* L. prin tehnici de microscopie electronică de transmisie (TEM)
 - 6.3.1. Ultrastructura rădăcinii adventive la specia *Geranium robertianum* L.
 - 6.3.2. Ultrastructura tulpinii subterane (rizomului) la specia *Geranium robertianum* L.
 - 6.3.3. Ultrastructura tulpinii aeriene la specia *Geranium robertianum* L.
 - 6.3.4. Ultrastructura pețiolului la specia *Geranium robertianum* L.
 - 6.3.5. Ultrastructura limbului foliar la specia *Geranium robertianum* L.
- 6.4. Analiza compoziției fitochimice a speciei *Geranium robertianum* L.
 - 6.4.1. Compoziția fitochimică a extractelor hidroalcoolice de *Geranium robertianum* L.
 - 6.4.2. Compoziția fitochimică a extractelor apoase de *Geranium robertianum* L.
- 6.5. Analiza comparativă a conținutului de polifenoli din extractele de *Geranium robertianum* L. în contextul factorilor de mediu
- 6.6. Considerații privind caracterele morfo-anatomice și compoziția fitochimică a organelor vegetative la specia *Geranium robertianum* L.

CAPITOLUL 7.

CERCETĂRI MORFO-ANATOMICE ȘI FITOCHIMICE LA SPECIA *LEONURUS CARDIACA* L.

- 7.1. Cercetări morfo-anatomice asupra organelor vegetative la specia *Leonurus cardiaca* L. prin tehnici de microscopie optică
 - 7.1.1. Anatomia rădăcinii adventive la specia *Leonurus cardiaca* L.
 - 7.1.2. Anatomia rizomului la specia *Leonurus cardiaca* L.
 - 7.1.3. Anatomia tulpinii aeriene la specia *Leonurus cardiaca* L.
 - 7.1.3.1. Parte inferioară
 - 7.1.3.2. Parte superioară
 - 7.1.4. Anatomia pețiolului la specia *Leonurus cardiaca* L.
 - 7.1.5. Anatomia limbului foliar la specia *Leonurus cardiaca* L.
- 7.2. Cercetări morfo-anatomice asupra organelor vegetative la specia *Leonurus cardiaca* L. prin tehnici de microscopie electronică de baleiaj (SEM)
 - 7.2.1. Micromorfologia rizomului la specia *Leonurus cardiaca* L.
 - 7.2.2. Micromorfologia tulpinii aeriene la specia *Leonurus cardiaca* L.
 - 7.2.3. Micromorfologia pețiolului la specia *Leonurus cardiaca* L.
 - 7.2.4. Micromorfologia limbului foliar la specia *Leonurus cardiaca* L.
- 7.3. Cercetări morfo-anatomice asupra organelor vegetative la specia *Leonurus cardiaca* L. prin tehnici de microscopie electronică de transmisie (TEM)
 - 7.3.1. Ultrastructura rizomului la specia *Leonurus cardiaca* L.
 - 7.3.2. Ultrastructura tulpinii aeriene la specia *Leonurus cardiaca* L.
 - 7.3.3. Ultrastructura pețiolului la specia *Leonurus cardiaca* L.
 - 7.3.4. Ultrastructura limbului foliar la specia *Leonurus cardiaca* L.
- 7.4. Analiza compoziției fitochimice a speciei *Leonurus cardiaca* L.
 - 7.4.1. Compoziția fitochimică a extractelor hidroalcoolice de *Leonurus cardiaca* L.
 - 7.4.2. Compoziția fitochimică a extractelor apoase de *Leonurus cardiaca* L.
- 7.5. Analiza comparativă a conținutului de polifenoli din extractele de *Leonurus cardiaca* L. în contextul factorilor de mediu
- 7.6. Considerații privind caracterele morfo-anatomice și compoziția fitochimică a organelor vegetative la specia *Leonurus cardiaca* L.

CAPITOLUL 8.

CERCETĂRI MORFO-ANATOMICE ȘI FITOCHIMICE LA SPECIA *OENOTHERA BIENNIS* L.

8.1. Cercetări morfo-anatomice asupra organelor vegetative la specia *Oenothera biennis* L. prin tehnici de microscopie optică

8.1.1. Anatomia rădăcinii la specia *Oenothera biennis* L.

8.1.1.1. Parte inferioară

8.1.1.2. Parte superioară

8.1.2. Anatomia tulpinii la specia *Oenothera biennis* L.

8.1.2.1. Partea inferioară

8.1.2.2. Partea superioară

8.1.3. Anatomia pețiolului la specia *Oenothera biennis* L.

8.1.4. Anatomia limbului foliar la specia *Oenothera biennis* L.

8.2. Cercetări morfo-anatomice asupra organelor vegetative la specia *Oenothera biennis* L. prin tehnici de microscopie electronică de baleiaj (SEM)

8.2.1. Micromorfologia rădăcinii la specia *Oenothera biennis* L.

8.2.2. Micromorfologia tulpinii la specia *Oenothera biennis* L.

8.2.3. Micromorfologia pețiolului la specia *Oenothera biennis* L.

8.2.4. Micromorfologia limbului foliar la specia *Oenothera biennis* L.

8.3. Cercetări morfo-anatomice asupra organelor vegetative la specia *Oenothera biennis* L. prin tehnici de microscopie electronică de transmisie (TEM)

8.3.1. Ultrastructura rădăcinii la specia *Oenothera biennis* L.

8.3.2. Ultrastructura tulpinii la specia *Oenothera biennis* L.

8.3.3. Ultrastructura pețiolului la specia *Oenothera biennis* L.

8.3.4. Ultrastructura limbului foliar la specia *Oenothera biennis* L.

8.4. Analiza compoziției fitochimice a speciei *Oenothera biennis* L.

8.4.1. Compoziția fitochimică a extractelor hidroalcoolice de *Oenothera biennis* L.

8.4.2. Compoziția fitochimică a extractelor apoase de *Oenothera biennis* L.

8.5. Analiza comparativă a conținutului de polifenoli din extractele de *Oenothera biennis* L. în contextul factorilor de mediu

8.6. Considerații privind caracterile morfo-anatomice și compoziția fitochimică a organelor vegetative la specia *Oenothera biennis* L.

CONCLUZII

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

ANEXA 1

Metoda spectrometriei de masă prin cromatografie lichidă (LC/MS)

ACTIVITATE ȘTIINȚIFICĂ

*** Numerotarea subcapitolelor, figurilor, graficelor și tabelelor incluse în prezentul rezumat păstrează structura originală a tezei enunțată în cuprinsul de mai sus.

CUVINTE CHEIE

Morfoanatomie vegetală, extracte vegetale, extract hidroalcoolic, extract apos, fitochimie, polifenoli, compuși bioactivi, *Tussilago farfara* L., *Geranium robertianum* L., *Leonurus cardiaca* L., *Oenothera biennis* L., plante medicinale, flora spontană, factori pedoclimatici, influența factorilor de mediu, HPLC, Q-GIS, microscopie optică, microscopie electronică, TEM, SEM, micromorfologie, ultrastructură celulară.

LISTA PRESCURTĂRIILOR

ECN - 7β-(3-etil-ciscrotonoiloxi)-1α-(2-metilbutiriloxi)-3(14)-dehidro-Z-notonipetranon

3-CQA - acid 3-cafeoilquinic

4-CQA - acid 4-cafeoilquinic

5-CQA - acid 5-cafeoilquinic

3,4-diCQA - acid 3,4-dicafeoilquinic

3,5-diCQA - acid 3,5-dicafeoilquinic

4,5-diCQA - acid 4,5-dicafeoilquinic

EMDT - 2-etil-5-metoxi-N,N-dimetiltriptamin

Ppm - părți per milion

HO-1 - hem oxigenaza-1

NF-kappaB - factor nuclear amplificator-de-lanț-ușor-kappa al celulelor activate B

MAP - protein kinază activată de mitogen

Nrf2 - factor nuclear de transcripție aferent factorului eritroid 2

iNOS - sintetaza de oxid nitric inductibil

COX-2 - ciclooxygenaza 2

LPS - lipopoliozaharide

IFN-gamma - Interferon gamma

NO - oxid nitric

TNF-alfa - factor de necroză tumorală alfa

MIC - concentrație minimă inhibitorie

C% - procentaj concentrație

IC₅₀ - concentrație inhibitorie maximă 50%

GI₅₀ - concentrație maxim inhibitorie a proliferării celulare 50%

EC₅₀ - concentrație medie efectivă

RM – linie de celule renale de maimuță Rhesus

MPP+ - 1-metil-4-fenilpiridinium

DPPH - test antioxidant de captare cu 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

ABTS - test antioxidant cu 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonic acid)

FRAP - potențial antioxidant de reducere a ionilor de fier

PQ - interval de depolarizare atrială într-o electrocardiogramă

QT - interval de acțiune ventricular într-o electrocardiogramă

QRS - complex de depolarizare ventriculară într-o electrocardiogramă

ECG - electrocardiogramă

GTPCH1 - guanozin trifosfat ciclooxygenaza 1

DHFR - dihidrofolat reductaza

GABA - acid gama amiobutiric

DMSO - dimetilsulfoxid

KIM-1 - molecula 1 renală

Alfa-SMA - actina de mușchi neted alfa

TGF-beta - factor de creștere transformator beta

IL-6 - Interleukina 6

IL-1beta - interleukina 1-beta

PAF - factor de activare plachetară

TLR4 - receptor 4 Toll-like

BuOH - butanol

GAE - echivalent de acid galic

LDL-C - lipoproteină de densitate mică - colesterol

INTRODUCERE

Inițiativele actuale de la nivel global sunt orientate către identificarea și dezvoltarea de noi compuși cu valoare terapeutică. Plantele medicinale sunt utilizate încă din antichitate și continuă să fie o sursă principală de compuși bioactivi cu diversitate structurală și valoare terapeutică inestimabilă (Dehelean și Pinzaru., 2024; Latif și Nawaz, 2025). Prin urmare, eforturile globale se concentrează pe cercetarea plantelor medicinale, în special pe cele utilizate în medicina tradițională, cu scopul de a descoperi compuși bioactivi noi și de a explora aplicații terapeutice suplimentare celor deja cunoscuți. Această urgență este subliniată de limitările medicinei convenționale în abordarea unor probleme medicale complexe precum sindromul metabolic, afecțiunile neurodegenerative, bolile cardiovasculare, cancerul și rezistența la antibiotice. Tratamentele convenționale sunt adesea asociate cu numeroase efecte adverse, accesibilitate redusă și costuri ridicate. De asemenea, sunt recunoscute limitele financiare și tehnologice actuale de sintetizare a compușilor bioactivi, majoritatea fiind obținuți din plante recoltate din flora spontană și cultivată (WHO, 2000; Rates, 2001; Süntar, 2020).

În acest context, plantele medicinale și vastele cunoștințe acumulate empiric din antichitate până azi în medicina tradițională, dar și cunoștințele referitoare la evoluția și adaptările plantelor la mediul înconjurător reduc semnificativ timpul de identificare, lista de specii care ar putea oferi compuși bioactivi importanți și costurile asociate (WHO, 2000; Dehelean și colab., 2024). Preparatele naturiste din plante ar fi în acest sens preferabile, deoarece au efecte adverse limitate și sunt mai accesibile (Rates, 2001). Cu toate că în țările occidentale, valoarea lor terapeutică este încă privită cu scepticism, tot mai multe efecte benefice sunt demonstrate de studii științifice. Accesul la aceste date este facilitat în prezent de tehnologie și de adoptarea unor noi standarde în educație (exemplu: surse de tip OpenAccess) (Gwynn și Hylands, 2000; Dehelean și colab., 2024; Latif și Nawaz, 2025).

O mare parte dintre receptorii endogeni identificați la om, cu funcții importante în organism, sunt activați de fitocompuși (exemplu: receptorii pentru opioide și canabinoide). Tot mai mulți cercetători susțin posibilitatea unui număr mult mai mare de relații între structură și activitate, de importanță fiziologică și farmacologică, ce implică fitocompuși încă necaracterizați (Gwynn și Hylands, 2000). Compușii vegetali naturali au o biocompatibilitate mai mare decât cei sintetizați, acționează sinergic, adesea pe căi metabolice similare (Rout și colab., 2009). Mai mult decât atât, în combinație cu medicația

convențională pot sporii eficacitatea tratamentului (Chaudhary și colab., 2015; Pezzani și colab., 2019).

Cercetările efectuate până în prezent arată că produșii naturali din plante acționează ca instrumente terapeutice în afecțiunile inflamatorii, în special polifenolii au fost remarcați ca modulatori metabolici semnificativi prin capacitatea lor de a influența mai multe căi celulare și moleculare cheie (Sivapragasam și colab., 2016; Liu și colab., 2023). Alături de inflamație, stresul oxidativ a devenit și el o țintă strategică în dezvoltarea de noi terapii și medicamente, pe măsură ce studiile au continuat să arate contribuția lui în patogeneza unor afecțiuni variate (Hussain și colab., 2016). Conform literaturii de specialitate, speciile care fac subiectul prezentei teze doctorat - *Tussilago farfara* L., *Geranium robertianum* L., *Leonurus cardiaca* L. și *Oenothera biennis* L., au mecanisme comune de acțiune antioxidantă și antiinflamatoare, inclusiv activarea Nrf2, inhibarea unor citokine inflamatoare, a TNF- α și a producției de NO (Schmidt și colab., 2003; Armatu și colab., 2010; Zhi și colab., 2012; Li și colab., 2012; Granica și colab., 2013; Avila și colab., 2013; Song și colab., 2014; Ratz-Lyco și colab., 2015; Bartlam și colab., 2017; Kyung și colab., 2017; Catarino și colab., 2017). Aceste mecanisme sunt tot mai studiate, devenind ținte strategice în tratarea unor afecțiuni complexe precum cele menționate mai sus (Hussain și colab., 2016; Roh and Sohn 2018; Tonelli și colab. 2018; Yahfoufi și colab. 2018).

Înainte de secolul XIX, plantele erau principala sursă de medicamente, iar în prezent continuă să reprezinte originea a 20-25% până la 40% din produsele farmaceutice (Rates, 2001; Süntar, 2020; Abbott, 2024), servind ca agenți terapeutici direcți și surse de molecule model pentru sinteza și semisinteza medicamentelor (Dehelean și colab., 2024). Mai mult decât atât, conform Organizației Mondiale a Sănătății (OMS/WHO) aproximativ 75-80% din populația globală depinde de medicamentele pe bază de plante pentru nevoile primare de îngrijire a sănătății (Dehelean și colab., 2024; Latif și Nawaz, 2025).

În ciuda intensificării eforturilor din ultimii ani, de cercetare a plantelor medicinale, potențialul acestora rămâne în cea mai mare parte a sa neexplorat. Din aproximativ 4-500,000 de specii de plante estimate în flora globală, doar 15% au fost investigate fitochimic, iar proprietățile terapeutice au fost investigate chiar mai puțin (6%) (Seidel, 2020). În majoritatea cazurilor au fost efectuate doar screening-uri și studii preliminare (Rates, 2001; Rout și colab., 2009), dar specii precum *Taxus baccata*, *Camptotheca acuminate* și *Artemisia annua* fac parte din cele mai cunoscute și de success studii, din care au rezultat medicamente noi, folosite și în prezent pentru tratarea cancerului și a malariei (Cseke și colab., 2006). Galantamina din *Galanthus woronowii* a fost aprobată în 2001 pentru tratarea

formelor ușoare și moderate ale afecțiunii Alzheimer și continuă să fie o opțiune de bază în tratament (Seidel, 2020). Plantele din genul *Salix* și *Populus* sunt surse de acid salicilic și stau la baza unuia dintre cele mai cunoscute și utilizate medicamente din lume – aspirina, iar *Papaver somniferum* reprezintă sursa de morfină, codeină și papaverină, utilizate pentru efectul analgezic, antitusiv, respectiv antispastic (Dehelean și colab., 2024). Astfel de exemple contribuie la interesul pentru utilizarea plantelor în dezvoltarea de noi medicamente.

Individualizarea terapiei a fost anticipată încă de la începutul anilor 1990 de unii oameni de știință și vizionari, după progresul apărut în genomică. În Medicina Tradițională Chineză (TCM) și medicina Ayurvedică, tratamentele individualizate pentru fiecare pacient, cu amestecuri personalizate de plante medicinale, sunt practicate de secole (Gwynn și Hylands, 2000). Fitoterapia este o ramură a medicinei care utilizează plantele și principiile active extrase din acestea pentru prevenția și tratamentul diverselor afecțiuni, deosebindu-se de alte terapii naturiste prin accentul pus pe dovezi științifice, standardizare și studii clinice (Petkova și colab., 2019; Allegra și colab., 2023). Relevanța fitoterapiei a crescut odată cu tendința de consolidare a terapiei individualizate, deoarece abordarea sa holistică, centrată pe pacient se aliniază principiilor îngrijirii personalizate, concentrându-se pe constituția unică a persoanei și nu pe un singur simptom sau o boală. De asemenea, tendința din ultimele decenii de utilizare a produselor naturale din plante și de integrare a medicinei complementare și alternative a fost intensificată odată cu pandemia COVID-19 (Latif și Nawaz, 2025). Extractele fitoterapice, asemeni medicamentelor convenționale, acționează asupra organismului prin activitatea biologică/farmacologică a compușilor biochimici pe care le conțin, efectele fiind dependente de natura și concentrația acestora (Allegra și colab., 2023). Spre deosebire de majoritatea medicamentelor convenționale care se bazează pe un singur ingredient activ, extractele din plante conțin mai mulți compuși bioactivi care acționează sinergic. Potențialul terapeutic și activitatea biologică a extractului vegetal complex prezintă efecte noi, depășind proprietățile observate la compușii izolați. Această complexitate permite o abordare nuanțată a tratamentului, care poate fi adaptată nevoilor specifice și multifacetate ale fiecărei persoane. Încă din anul 2000, Gwynn și Hylands au anticipat apariția unei noi clase de remedii prescrise, cu amestecuri complexe de extracte din plante / conținut de compuși cu activitate sinergică, pentru tratarea unor afecțiuni diverse, a simptomelor asociate și în scop profilactic.

În aceeași direcție, OMS oferă linii directe pentru cercetarea medicinei tradiționale (MT), concentrându-se pe calitate, siguranță și eficacitate, punând accentul pe verificarea

botanică, analiza chimică și studiile clinice riguroase pentru a genera dovezi consistente, integrând MT în sistemele de sănătate prin standarde, cercetare și promovarea cadrelor de reglementare la nivel național, toate în conformitate cu noua Strategie globală pentru medicina tradițională 2025-2034. Metodologiile cheie implică armonizarea terminologiei, identificarea botanică, studiile biologice și farmacognozice, evaluarea clinică, analiza și documentarea dovezilor (WHO, 2025). Primul pas esențial include identificarea precisă a plantelor (verificarea botanică); următorii pași implică izolarea și identificarea constituenților activi (spre exemplu polifenoli, alcaloizi, taninuri), înțelegerea profilurilor chimice ale plantelor medicinale (cum ar fi variațiile între populații, între organele plantei, influența factorilor genetici și de mediu) și standardizarea ingredientelor pentru a asigura o calitate, siguranță și eficacitate constante (WHO, 2025).

Abordarea procesului de descoperire a noi agenți terapeutici vegetali depinde de rezultatul scontat. Strategiile implementate și cerințele sunt diferite pentru obținerea de produse fitoterapice comercializate ca suplimente alimentare și obținerea de compuși activi izolați și utilizați în industria farmaceutică/comercializați ca medicament. Primele etape sunt comune și includ: selecția plantelor relevante, de regulă în baza studiilor despre utilizarea lor în medicina tradițională; identificarea și caracterizarea botanică; analiza compoziției fitochimice și izolarea compușilor bioactivi prin metode cromatografice și spectrofotometrice. Având în vedere că extractele din plante conțin un număr mare de compuși bioactivi dar în concentrații scăzute, tehnicile trebuie să fie sensibile la o diversitate de compuși în cantități mici, să fie simple, reproductibile și cu costuri reduse (Rates, 2001). În continuare, strategia care are ca finalitate obținerea unui medicament presupune caracterizarea, sinteza parțială sau totală la scară largă a compusului izolat, necesare studiilor preclinice, clinice și toxicologice costisitoare. Strategia care are ca finalitate obținerea unor produse fitoterapice este mai puțin costisitoare atât financiar, cât și ca timp, cu toate că și aceasta implică studii privind eficacitatea și siguranța produsului (Rates, 2001). Deși cercetările din prezenta teză de doctorat se încadrează în etapele comune, s-a avut în vedere finalitatea sub forma unor produse fitoterapice.

Practicile medicinei tradiționale sunt diferite în funcție de țară și de regiune, fiind influențate de flora locală, cultură, istoric, etc. Siguranța și eficacitatea acestora sunt susținute de cunoștințele și experiențele acumulate de secole, la care se adaugă studiile științifice din ultimele decenii (WHO, 2000; Sântar, 2020; Latif și Nawaz, 2025). În România, utilizarea tradițională a plantelor medicinale și aromatice datează încă din primul secol E.N., din vremea așezărilor tracilor (Kupke și colab., 2000). Favorizată de poziția

biogeografică și diversitatea peisajului, România are un nivel ridicat de biodiversitate. Este punctul de întâlnire al unor ecosisteme și bio-regiuni diferite, ceea ce se reflectă și în bogăția covorului vegetal (Kathe și colab., 2003). În ceea ce privește plantele medicinale și aromatice, România este o resursă importantă a Europei, fiind cultivate, dar mai ales recoltate din flora spontană cantități importante în scop economic. A fost estimat că flora României cuprinde peste 3,700 de taxoni, reprezentând aproape 30% din flora vasculară europeană, dintre care peste 20% sunt plante medicinale (Murariu, 2002; Segneanu și colab., 2018).

Principiile active din plante sunt reprezentate de metaboliți secundari, care deși nu au rol în creșterea și dezvoltarea plantei, sunt esențiali pentru supraviețuire și mediază interacțiunile cu mediul înconjurător. Prin urmare, prezența și concentrația lor este puternic influențată de factori genetici și de mediu (Borges și colab., 2017; Zhan și colab., 2022). În cazul plantelor medicinale este important să se acorde atenție influenței condițiilor de mediu specifice din locațiile de recoltare asupra compoziției în principii active, prin studii locale și comparative.

Cercetările din prezenta teză de doctorat sunt ancorate în preocupările de la nivel global de identificare a unor noi compuși cu valoare medicinală și noi soluții pentru prevenția și tratamentul unor afecțiuni complexe precum cele menționate mai sus, care au la bază stresul oxidativ și inflamația. De asemenea, prezentele cercetări se înscriu în curentul actual al medicinei personalizate și interesului progresiv pentru fitoterapie.

Cercetările efectuate aduc în atenție potențialul terapeutic a patru specii de plante medicinale cunoscute și utilizate în medicina tradițională din diverse regiunii ale lumii încă din antichitate: *Tussilago farfara* L., *Geranium robertianum* L., *Leonurus cardiaca* L. și *Oenothera biennis* L. Proprietățile terapeutice și conținutul lor în compuși bioactivi importanți sunt susținute de studii științifice, remarcându-se proprietățile antioxidante, antiinflamatorii și o serie de căi de acțiune biologice comune, menționate mai sus și sintetizate în Capitolul 1 dedicat literaturii științifice. O parte dintre aceste proprietăți sunt recunoscute în medicina convențională, toate cele patru specii fiind incluse în multiple farmacopei ale lumii. Toate aspectele discutate mai sus alături de lipsa din literatura de specialitate a unor studii biologice necesare au stat la baza selecției celor patru specii.

Rezultatele obținute completează literatura de specialitate cu date despre morfo-anatomia speciilor luate în studiu, esențiale în caracterizarea și diferențierea speciilor, de interes botanic și necesare pentru controlul calității materialului vegetal din preparate fitoterapice. În vederea efectuării unor analize complexe asupra structurii și ultrastructurii

organelor vegetative, care au avut ca scop, pe lângă caracterizarea morfo-anatomică, identificarea organelor și structurilor responsabile de producția și stocarea compușilor bioactivi la aceste patru specii, s-au utilizat metode de microscopie optică, electronică de baleiaj (SEM) și de transmisie (TEM). Subliniem faptul că numeroase aspecte morfo-anatomice și fitochimice sunt complet noi pentru literatura de specialitate, cu valoare științifică fundamentală (Bota și colab., 2020; Bota și colab., 2022a; Bota și colab., 2022b; Bota și colab., 2022c; Bota și colab., 2025). Rezultatele cuprind adesea o primă descriere a structurii morfo-anatomice a organelor vegetative la speciile avute în atenție; subcapitolele despre ultrastuctura celulelor din diverse țesuturi prezintă date complet noi pentru aceste patru specii și aduc un aport substanțial în cunoașterea și înțelegerea unor structuri și procese de la nivel celular puțin cunoscute în prezent. De asemenea, rezultatele completează literatura de specialitate cu date despre compoziția în principii active, analizate prin metode cromatografice și spectrofotometrice moderne (LC/MS și GC/MS), unii compuși fiind identificați pentru prima dată la speciile luate în studiu. În același timp, aceste cercetări răspund necesității de studii comparative și de analize efectuate la populații din flora României. Descrierile morfo-anatomice ale speciilor sunt urmate de subcapitole în care se prezintă comparativ compoziția în compuși bioactivi a două tipuri de extracte vegetale (apoase și hidroalcoolice), obținute din plante aparținând la câte două populații diferite din zona de câmpie, respectiv din zona de munte, din flora spontană a României. Analiza comparativă a conținutului în principii active este plasată în contextul factorilor pedoclimatici diferiți care caracterizează cele două zone de recoltare a materialului vegetal, factori care conform literaturii de specialitate influențează compoziția plantelor în compuși bioactivi (Liu și colab., 2016; Suyal și colab., 2020; Zhang și colab., 2020; Chelghoum et al, 2021). Din fiecare locație de recoltare au fost analizate altitudinea, condițiile climatice de pe parcursul a trei ani care includ întreaga perioadă de dezvoltare ontogenetică a speciilor și o serie de parametri edafici de bază. Distribuția spațială a parametrilor climatici (temperatură medie anuală, precipitații anuale cumulate) a fost modelată utilizând tehnologia QGIS și metoda de interpolare IDW (Inverse Distance Weighting), rezultatele fiind transformate în hărți tematice, abordare ce urmează evoluțiile din domeniul științei GIS (Sistem Informațional Geografic) și a studiilor aplicate care evidențiază utilitatea analizei spațiale pentru înțelegerea dinamicii peisajului și a impactului asupra plantelor.

SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII

Cercetările din prezenta Teză de doctorat au avut ca scop, pe de-o parte, caracterizarea morfo-anatomică și biochimică a speciilor *Tussilago farfara* L., *Geranium robertianum* L., *Leonurus cardiaca* L. și *Oenothera biennis* L. din flora spontană a României, cu identificarea organelor responsabile de producția și stocarea compușilor bioactivi, iar pe de altă parte, analiza influenței factorilor de mediu asupra conținutului lor de metaboliți secundari de interes terapeutic.

Obiectivele cercetărilor:

O1 – investigații morfo-anatomice ale organelor vegetative: analiza structurii, a micromorfologiei și a ultrastructurii frunzei, tulpinii și/sau rizomului, rădăcinii, prin tehnici de microscopie optică, microscopie electronică de baleiaj (SEM), respectiv de transmisie (TEM); observarea și descrierea unor elemente anatomice importante în identificarea și caracterizarea speciilor, dar și a unor formațiuni de producție și stocare a compușilor bioactivi de interes farmacologic.

O2 – obținerea de extracte hidroalcoolice și apoase din organele vegetative aparținând taxonilor recoltați din două regiuni geografice din România cu condiții ecologice diferite și caracterizarea lor biochimică.

O3 – evaluarea unor factori de mediu din locațiile de recoltare capabili să influențeze compoziția fitochimică: analiza stării de fertilitate a solului (pH, cantitate de azot total, de fosfor și potasiu – forme asimilabile); analiza condițiilor climatice pe parcursul ciclului ontogenetic al speciilor luate în studiu (temperatura medie anuală, temperatura medie din luna ianuarie și din luna iulie, temperaturile maxime și minime anuale, precipitații anuale cumulate, zile fără îngheț), altitudine.

O4 – analiza comparativă a profilului polifenolic al exemplarelor aparținând taxonilor de interes recoltați din două regiuni geografice ale țării cu condiții ecologice diferite (câmpie și munte).

PARTEA I-A: STADIU ACTUAL AL CUNOAȘTERII

CAPITOLUL 1

ISTORICUL CERCETĂRILOR PRIVIND BIOLOGIA SPECIILOR LUATE ÎN STUDIU

1.1. Biologia speciei *Tussilago farfara* L. - istoricul cercetărilor

1.1.1. Utilizare

Tussilago farfara L. este o specie cu o îndelungată reputație medicinală (Săvulescu, 1964). După taxonomia numelui, care provine de la latinescul „*tussio*” - tuse și „*agere*” - a vindeca, a goni, utilizarea de bază a plantelor aparținând speciei este pentru tratarea tusei (Săvulescu, 1964; Barkley, 2006; Zhi și colab., 2012). În România specia se numește popular „podbal” sau „copita măgarului”, reflectând forma frunzelor, utilizate în medicina tradițională din Europa (Drăgulescu și Drăgulescu, 2000; Sârbu și colab., 2013).

În Medicina Tradițională Chineză (TCM) se utilizează mugurii florali (*Farfarae flos*/Kuandonghua), aceștia fiind menționați în cărțile de specialitate chineze încă din timpul Dinastiilor Qin și Han (aproximativ 2000 de ani în urmă) pentru tratarea tusei, bronșitei și astmului (Zhi și colab., 2012; Wu și colab., 2016; Liu și colab., 2020), iar *Collective Notes to Canon of Materia Medica* (Tao Hongjing, A.D. 456-536 citat de Chen și colab., 2021) include o primă mențiune a acestora în tratamentul pentru diabet, alături de tuse, dureri de gât, respirație gâfâitoare, epilepsie indusă de teroare, frisoane, febră și rău.

În extremitatea vestică a Asiei, în regiunea Anatoliei, pe lângă utilizarea de bază a speciei discutată până acum, se utilizează și frunzele, respectiv florile, în tratarea inflamației ochilor, a varicelor, rănilor, arsurilor, dereglărilor menstruale și dispepsiei (Uzun și colab., 2004). În Farmacopeea Rusă frunzele sunt recomandate ca expectorant și sedativ în tratarea răcelii și în alte afecțiuni respiratorii (astm, bronșită), iar conform Vereschagin și colaboratorii (1959), citat de mai mulți autori, acestea sunt folosite în Siberia, administrate pe cale internă, pentru îmbunătățirea digestiei, tratarea diareei, ca analgezic, iar extern pentru afecțiuni ale pielii (Shikov și colab., 2014; Jarić și colab., 2018). Așa de exemplu, Jarić și colaboratorii menționează, în anul 2018, alături de alți autori, utilizarea lor externă pentru afecțiuni ale pielii (răni, arsuri, ulcere) în Turcia, Ucraina, Polonia și în mai multe țări din Peninsula Balcanică, iar Rigat și colaboratorii, în anul 2015, le amintesc pentru Peninsula Iberică.

Spre deosebire de regiunea asiatică, în care țările cu obiceiuri medicinale similare Chinei întrebuințează specia în același mod (Liu și colab., 2020), în Europa și America sunt utilizate și alte organe ale plantei (flori, frunze, rădăcini) atât în scop medicinal, cât și

alimentar, existând o preferință pentru frunze (Tobyn și colab., 2011; Zhi și colab., 2012; Liu și colab., 2020).

Conform Chen și colaboratorii (2021), utilizarea tradițională a frunzelor în Europa este extinsă la tratarea unor afecțiuni gastrointestinale și urinare, răni, arsuri și inflamații ale ochilor. În Statele Unite ale Americii este menționată utilizarea rădăcinilor de podbal sub formă de infuzie pentru tuse și astm, ca stimulent, relaxant, demulcent, expectorant, tonic, dar și pentru tratarea inflamației cronice (catar), a afecțiunilor ficatului (depurativ, tonic) sau a tuberculozei (Tobyn și colab., 2011; Herrick, 1977, Hopper și Chandler, 1984 citați de Liu și colab., 2020).

În Europa, inclusiv în România, specia este întrebuințată și în scop alimentar (Săvulescu, 1964; Łuczaj și Szymański, 2007; Łuczaj, 2012; Kalle și colab., 2012; Dénes și colab., 2012; Adamczak și colab., 2013; Dogan și colab., 2015; Ghosh și colab., 2017; Uysal și colab., 2018). Având în vedere dubla utilizare a speciei, ca aliment și remediu medicinal, există potențialul de întrebuințare ca aliment funcțional, insuficient explorat în prezent.

1.1.2. Cercetări farmacologice și farmacocinetice

Studiile farmacologice și farmacocinetice efectuate până în prezent atât *in vitro*, cât și *in vivo* și *in silico*, în mare parte asupra mugurilor florali și frunzelor, dar și a unor fitocompuși izolați au relevat activități biologice în concordanță cu utilizarea lor în medicina tradițională. Mai mult decât atât, au fost raportate o serie de studii care susțin potențialul medicinal al speciei dincolo de utilizările menționate, în special în domeniul oncologic.

În sprijinul utilizării speciei pentru tratarea bolilor de la nivelul sistemului respirator, se pot cita studiile efectuate de Li și colab. (2012), Wu și colab. (2016), Li Jing și colab. (2018), Yang și colab. (2020), Xu și colab. (2022) și Lin și colab. (2022) asupra mugurilor florali. Utilizările în cazul afecțiunilor respiratorii, dar și ale pielii, menționate în medicina tradițională sunt susținute și prin prisma efectelor antivirale și antimicrobiene raportate pentru toate organele plantei. Aceste proprietăți sunt susținute de studiile realizate de Kokoska și colaboratorii în anul 2002 pentru organele aeriene și rizom; Turker și Usta (2008), Danilets și colab. (2010) și Uysal și colab., (2018) pentru frunze; Zhao și colab. (2014) pentru organele aeriene (inclusiv în cazul tuberculozei); Hleba și colab. (2014) pentru flori și tulpină; de Boucher și colab. (2020) pentru flori; de Ding și colab. (2018), Lee și colab. (2019) și Sun și colab. (2019) pentru mugurii florali. Pentru tussilagone izolată au fost semnalate atât efecte antimicrobiene, cât și antipsoriazice/antidermatitice (Kim și colab., 2017; Lee și colab., 2020). Rezultate promițătoare, care susțin eficacitatea speciei în tratarea

diabetului, au fost obținute pentru mugurii florali de către Gao și colab. (2008), Park și colab. (2008) și Song și colab. (2020), iar pentru frunze de către Kuroda și colab. (2016) și Kikuchi și colab. (2020). De asemenea, au fost semnalate rezultate pozitive și pentru tratarea afecțiunilor gastrointestinale de către Szentmihályi și colab. în anul 2013 pentru infuzia din frunze și muguri florali, de către Safonova și colab. în anul 2018 pentru polizaharidele izolate, respectiv de Cheon și colab. în anul 2018.

Cele mai multe studii realizate în acest sens explorează potențialul speciei dincolo de utilizările sale din medicina tradițională. Astfel, în cazul mugurilor florali au fost raportate efecte benefice în tratarea bolilor cardiovasculare (Hwang și colab., 1987; Li și Wang, 1988), a bolilor neurodegenerative (Cho și colab., 2005; Lim și colab., 2008; Lim și colab., 2015; Lee și colab., 2018), a ischemiei cerebrale (Hwang și colab., 2018) și neuropatiei (Khan și colab., 2021), dar și a cancerului de colon, de plămâni și de sân (Ryu și colab., 2014; Qin și colab., 2014; Qu și colab., 2018; Jang Hyeri și colab., 2019; Lee și colab., 2019; Song și colab., 2021). Alte studii arată o capacitate citoprotectivă a mugurilor florali (Kang și colab., 2016; Sun și colab., 2019), precum și eficiență împotriva enterovirusului 71 (Chiang și colab., 2017), a alergiilor (Jin și colab., 2020), rinitei alergice (Wu și colab., 2021), dar și în prevenirea osteoporozei (Ryoo și colab., 2020).

Activități similare au fost menționate pentru tussilagonă, sescviterpene și polizaharide izolate. Rezultatele obținute de Safonova și colaboratorii referitoare la polizaharidele izolate arată nu doar o activitate antitumorigenă, dar și o creștere a eficacității tratamentului convențional, activitate genoprotectivă și regenerativă, promovând repararea țesuturilor afectate de polichimioterapie și citostatice, reducere a toxicității fluoracilului și creștere a numărului de celule stem hematopoetice din măduva osoasă (Safonova și colab., 2016, 2018a, 2018b, 2019, 2020a, 2020b).

1.1.3. Compoziție chimică

Având în vedere utilizarea predominantă a mugurilor florali, respectiv a frunzelor de podbal, acestea sunt și cele mai studiate organe din privința compoziției lor chimice, urmate de flori și alte părți ale plantei. Evaluările existente în bibliografia de specialitate arată un profil chimic similar al acestor organe, care înregistrează totuși o variabilitate semnificativă a conținutului între mugurii florali, flori și frunze, respectiv între populații de plante (Zhi și colab., 2012; Xue și colab., 2012; Li și colab., 2018). După anul 1980 au fost efectuate mai multe investigații privind compoziția chimică a mugurilor florali, care au relevat prezența a aproximativ 175 compuși, incluzând terpene, acizi organici, flavonoide, alcaloizi, cromoni,

uleiuri esențiale, polizaharide bioactive, dar și taninuri, aminoacizi, steroizi, cetone, lipide, aldehide, iaraxantin și elemente minerale. Cercetările vizează adesea conținutul de sescviterpene și acizi cafeoilquinici pentru activităților lor farmacologice, respectiv alcaloizi pirolizidinici pentru potențialul lor toxic (Liu și colab., 2020).

1.1.4. Conținut de alcaloizi pirolizidinici și toxicitatea speciei

Deși *T. farfara* este o specie cu un lung istoric în medicina tradițională, siguranța utilizării ei în scop terapeutic a fost pusă sub semnul întrebării datorită prezenței alcaloizilor pirolizidinici nesaturați (PA) (Evans și colab., 2019). Polemica în ce privește siguranța consumului de plante cu PA a determinat formarea unei echipe de expertiză, care a efectuat o analiză complexă a evidențelor aduse până în prezent. Conform acesteia, evidențele asupra efectelor adverse datorate consumului de *T. farfara* sunt puține, slab calitative și nu permit stabilirea unei cauzalități directe. Rapoartele de toxicitate au rezultat din identificarea greșită a speciei, din falsificarea produselor medicinale din plante sau din înlocuirea speciei (Evans și colab., 2019). O analiză a tuturor studiilor de caz efectuată de Avila și colaboratorii în anul 2020 arată un oarecare nivel de asociere între un material ingerat și efectul advers, dar lipsa unei identificări neechivoce a speciei consumate pune o mare lipsă de încredere în concluzii. Niciunul dintre studiile de caz existente nu constituie o evidență solidă pentru a trage concluzii cu privire la toxicitatea plantei. Cu toate acestea, s-a observat că nivelul de PA poate fi redus în mod major în cadrul unor culturi controlate (Wawrosch, 2000).

1.1.5. Potențial antioxidant și antiinflamator

Dimensiunea potențialului curativ al plantei este susținută în principal de efectele sale antioxidante și antiinflamatorii. Activitatea antioxidantă a mugurilor floralii este susținută de mai multe studii efectuate atât *in vitro*, cât și *in vivo* asupra unor extracte și compuși izolați (Ryu și colab., 1999; Cho și colab., 2005; Kim și colab., 2006; Li și colab., 2012; Qin și colab., 2014; Jang și colab., 2016; Song și colab., 2020). Activitatea antioxidantă a frunzelor este susținută de studiile efectuate de Georgescu și Antemir (2002), Arnold și colab., (2015), Uysal și colab. (2018) și Tajner-Czopek și colab. (2020) asupra unor extracte apoase și alcoolice.

Referitor la activitatea antiinflamatorie, mugurii floralii sunt din nou cei mai studiați, fie sub forma prăjită cu miere (Yang și colab., 2020), în extract (Hwang și colab., 1987; Hwang și colab., 2018), fie prin sescviterpene izolate din aceștia (Lim și colab., 2008; Hwangbo și colab., 2009; Jin și colab., 2020; Khan și colab., 2021). Activitatea

antiinflamatorie a frunzelor este susținută de Arnold și colab. (2015) și Conea și colab. (2016) prin studii *in vitro*, respectiv *in vivo*, iar extractele apoase și etanolice analizate de către Ravipati și colaboratorii în anul 2012 pe macrofage activate prin LPS și IFN-gamma au evidențiat efecte inhibitorii asupra NO și TNF-alfa.

1.2. Biologia speciei *Geranium robertianum* L. - istoricul cercetărilor

1.2.1. Utilizare

Geranium robertianum L. este o specie utilizată medicinal încă din Antichitate, fiind menționată de către Dioscorides în lucrarea intitulată "De Materia Medica" (50 d. Hr., p. 362). Originea denumirii speciei este mai puțin clară, în literatura de specialitate fiind prezentate diferite variante (Larkin, 2011). În limba română specia poartă denumiri populare variate, multe dintre ele cu aluzie la forma fructelor, la miros, la utilizare sau la ecologia speciei, cea mai cunoscută fiind „năpraznic” (Săvulescu, 1958; Drăgulescu, 2013; Sârbu și colab., 2013; Drăgulescu, 2018).

Referitor la utilizările medicinale ale speciei în Evul Mediu, în secolul al XII-a, în capitolul CXLIV al lucrării *Physica*, scrisă de către călugărița benedictină Hildegard de Bingen, se menționează utilizarea pulberii de *G. robertianum* prizată pentru congestie, coaptă în prăjituri și consumată pentru tuse sau în constricția plămânilor, dizolvată în vin cald și băută pentru dureri de piept, de gât sau pierderea vocii, iar în amestec cu spilcuță (*Tanacetum parthenium*) sau nucșoară (*Myristica fragrans*), presărată pe pâine sau linsă din mână pentru durerile de inimă (Larkin, 2011). În *Ein Gard der Gesundheit* din secolul al XV-lea, specia apare recomandată ca diuretic, în tratarea pietrelor la rinichi și ca tonic cardiac, iar scrierile lui John Gerard din secolul al XVI-lea urmează recomandările lui Dioscorides pentru utilizarea sa în tratarea rănilor sângerânde (Larkin, 2011).

La baza utilizării speciei în medicina tradițională se află principiile *Teoriei Semnăturilor*, dezvoltată încă din Antichitate, teorie care a atins apogeul în perioada Evului Mediu. Teoria semnăturilor încearcă să explice lumea înconjurătoare prin punerea în evidență a unor legături între aspect și proprietăți, în special în cazul plantelor medicinale. Conform acestei teorii, o plantă cu pigmenți roșii, cum este *G. robertianum*, ar trebui să regenereze sângele (Machon și Motard, 2018) sau să trateze afecțiuni legate de circulația sângelui, explicând întrebuințarea speciei ca hemostatic, cicatrizant și pentru probleme cardiace, unele dintre aceste proprietăți primind ulterior și confirmare științifică (Lacoste, 2015).

În literatura de specialitate referitoare la utilizările în medicina tradițională ale speciei *G. robertianum* sunt menționate proprietățile sale astringente, hemostatice, vulnerare (Pedro și colab., 1992; Radulović și colab., 2011), antiseptice, antispasmodice, diuretice (Fodorea și colab., 2005), hipoglicemiente, antitumorale, tonice (Radulović și colab., 2011), antiinflamatoare, antibacteriene și antihepatotoxice (Grața și colab., 2016a), antidiareice, (Kartig și Bucar-Stachel, 1991; Papović și colab., 2021) și antihipertensive, (Tiță și colab., 2009). Infuziile din frunze, tulpină și flori au efecte hipoglicemiente, antispasmodice și antitumorale (Kahouaji, 1995 citat de Bnouham și colab., 2002; Cunha și colab., 2009; Bautista și colab., 2015).

Conform mai multor autori citați de Fodorea și colaboratorii în anul 2005, specia este folosită în medicina tradițională pentru tratarea rănilor, a sângerărilor și afecțiunilor cardiace, a diareei (Leclerc, 1973; Hoppe, 1975; Readers Digest, 1985; Ody, 1993; Chevalier, 1996) și a cancerului (Leclerc, 1973). Alte surse menționează în plus utilizarea sa pentru tratarea afecțiunilor sistemului digestiv, a diabetului și alergiilor (Grața și colab., 2016a).

Referitor la administrarea internă sunt menționate infuzii, tincturi, decocturi și uleiuri volatile, iar extern sub formă de cataplasme, pentru tratarea afecțiunilor oculare și bucale, respectiv frunze proaspete aplicate direct pe erupții cutanate (herpes, eczeme, infecții) (Lanzara, 1997; Della Beffa, 1999 citați de Farcas, 2018).

Despre utilizările speciei în medicina tradițională românească scrie Tudor Ilie în anul 2016, menționând aprecierea acesteia în zonele de munte ca tonic și pentru aspecte legate de fertilitate.

G. robertianum este, de asemenea, o specie comestibilă, chiar și în stare crudă (Botineau, 2013). Conform Couplan și Duke (2013), frunzele proaspete pot fi folosite în salate sau în ceai și prezintă un gust pământiu, amar și astringent.

1.2.2. Cercetări farmacologice și farmacocinetice

Primele studii asupra activității antimicrobiene a speciei au fost realizate de către Hersch-Martinez și colab. (2005), Tosun și colab. (2005), Schelz și colab. (2006) și Lima (2009). Radulović și colaboratorii (2012) au remarcat o activitate antimicrobiană mai intensă a uleiurilor volatile extrase din organele subterane (MIC 0,312-10. mg/mL), comparativ cu cele aeriene. Conform unui studiu efectuat în anul 2014, realizat pe un număr de 70 de pacienți cu otită externă acută (OEA), uleiul volatil de *G. robertianum* în combinație cu cel de *Syzygium aromaticum* și *Lavandula angustifolia* a fost la fel de eficient ca și antibioticul ciprofloxacin, utilizat adesea în tratarea acestei afecțiuni (Panahi și colab., 2014). Ulterior s-

au raportat efecte antimicrobiene ale uleiurilor volatile extrase din herba (Renda și colab., 2016; Gębarowska și colab., 2017), precum și ale unor extracte din flori, frunze, tulpini și rădăcini asupra a o serie de bacterii Gram pozitive, Gram negative și a ciupercii *Candida albicans* (Shawarb și colab., 2017; Alhage și Elbitar, 2019; Suručić și colab., 2021).

Cu toate că mai multe surse menționează specia *G. robertianum* ca taxon utilizat în medicina tradițională în tratarea diabetului, cu efect hipoglicemiant, în literatura de specialitate am identificat un singur studiu care aduce dovezi științifice în acest sens (Ferreira și colab. 2010a).

Activitatea enzimatic inhibitorie a extractelor apoase din herba purificate și concentrate prin micro-, respectiv ultrafiltrare a fost demonstrată în cazul enzimelor urează și alfa-chimotripsină. Rezultatele obținute susțin utilizarea speciei în tratarea unor afecțiuni gastrice precum ulcerul indus de *Helicobacter pylori*, o posibilă explicație în acest caz fiind acțiunea sinergică a compușilor polifenolici identificați în extractele testate (Păun și colab., 2014).

Citotoxicitatea speciei împotriva celulelor tumorale a fost studiată la taxonul din flora României (Păun și colab., 2012). Ulterior a fost stabilită și o corelație între efectul antioxidant, cel citostatic și conținutul de polifenoli la extractele apoase din frunze (Neagu și colab., 2017). Activitatea citotoxică a extractelor apoase și organice a fost observată și pe liniile celulare tumorale MCF-7, NCI-H460, HeLa și HepG2, fără a afecta celulele hepatice sănătoase (Grața și colab., 2016; Grața și colab., 2017). Rezultate similare au fost observate și pentru decoctul din frunze (Catarino și colab., 2017).

Infuzia bogată în taninuri prezintă și o capacitate de chelare a metalelor grele (Cu, Cd, Ni, Pb, Hg), reducând biodisponibilitatea acestora în organism și promovând procesul de detoxifiere (Apostu și colab., 2017).

Recent a fost observat și un efect neuroprotectiv al extractului apos, care a protejat celulele din cultură diferențiată SHSY-5Y de toxicitatea indusă de 1-metil-4-fenilpiridinium (MPP+), efect ce sugerează un posibil beneficiu al extractului în tratarea bolii Parkinson (Aslan și Yilmaz, 2023). Cercetări recente aduc dovezi și în privința capacității gastroprotectoare a extractului apos din frunze (Bawish și colab., 2023).

1.2.3. Compoziție chimică

Investigațiile fitochimice asupra speciei *G. robertianum* au la bază extractele de tip solid-lichid, fiind concentrate asupra compușilor fenolici și uleiurilor esențiale (Grața și colab., 2016a). Taninurile sunt prima clasă de compuși semnalată la *G. robertianum*

(Hegnauer, 1966 citat de Graça și colab., 2016a). Acestea, alături de flavonoide și acizi fenolici sunt cele mai studiate clase de compuși prezenți în cadrul speciilor de *Geranium*, inclusiv *G. robertianum* (Graça și colab., 2016a). Este cunoscut faptul că la speciile de *Geranium* sunt prezente atât taninuri hidrolizabile cât și condensate, cele din urmă concentrate la nivelul organelor subterane, iar elagitininurile la nivelul frunzelor (Graça și colab., 2016a).

Dintre acizii fenolici, acidul elagic a fost identificat în cantități semnificative în diverse extracte (Bate-Smith, 1962; Kobakhidze și Alaniya, 2004; Fodorea și colab., 2005; Santos și colab., 2013; Păun și colab., 2014; Catarino și colab., 2017; Graça și colab., 2017; Neagu și colab., 2017). Alți acizi fenolici din compoziția speciei au fost identificați de Amaral și colab., 2009, respectiv de Păun și colaboratorii în perioada 2011 - 2012.

Flavonoidele au fost descrise pentru prima dată la *G. robertianum* de către Bate-Smith în anul 1962. Acestea reprezintă clasa principală de metaboliți secundari din această specie, cu predominanța flavonolilor (Graça și colab., 2016a; 2017), variații în cantitatea lor relativă fiind corelată uneori cu geografia genului (Bate-Smith, 1973).

Alte tipuri de compuși identificați la *G. robertianum* includ lectinele, evidențiate de Rybak și Rudik în anul 2013 în rizom. Prezența alcaloizilor a fost detectată de Hultin și Torssell în anul 1965 în planta uscată, respectiv de către Igwenyi și Elekwa în anul 2014 în frunzele proaspete. Au fost raportate în cantități similare saponine (Păun și colab., 2011; Igwenyi și Eleka, 2014), în cantități mici glicozide, oxalați (Igwenyi și Elekwa, 2014) și luteină în extracte apoase din herba (Loranty și colab., 2010), respectiv acetovanilion și 3',4'-dimetoxiflavon (Amaral și colab., 2009).

Un prim studiu privind compoziția uleiurilor volatile extrase din organele aeriene ale plantelor aparținând acestei specii, publicat în anul 1992 de către Pedro și colaboratorii, a detectat peste 100 de compuși, dintre care au fost identificați 72 (86% total ulei). Mai târziu, studiul efectuat de Radulović și colaboratorii (2012) a inclus atât părțile aeriene, cât și cele subterane ale plantelor, identificând 152 de compuși în prima categorie de organe (95,8% din ulei), respectiv 53 de compuși în cea de a doua (98% din total compuși). Diferențele de compoziție ar putea fi explicate prin variabilitatea genetică a speciei sau prin influența factorilor de mediu (Radulović și colab., 2012). Per ansamblu, cantitatea de uleiuri volatile în *G. robertianum* este scăzută, această realitate datorându-se, conform ideii emise de Radulović și colaboratorii (2012), producției scăzute de compuși volatili și nu metodelor de extracție utilizate, aspect susținut de predominanța acizilor grași și derivați, alături de compuși derivați carotenoizi în compoziția mostrelor de ulei volatil analizate.

1.2.4. Potențial antioxidant și antiinflamator

Activitatea antioxidantă este cea mai studiată activitate biologică a speciei, în literatura de specialitate fiind identificate 17 studii (publicate până în iunie 2023), realizate pe diverse părți ale plantelor de origini variate, utilizând în principal extracte apoase sau alcoolice și testul DPPH (testul antioxidant de captare cu 2,2-difenil-1-picrilhidrazil), într-o mică măsură alte metode *in vitro* (ABTS - testul antioxidant cu 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonic acid), beta-caroten, activitate de chelare a metalelor, FRAP - potențialul antioxidant de reducere a ionilor de fier, s.a.) (Katalinic și colab., 2006; Amaral și colab., 2009; Lima, 2009; Nikolova și colab., 2010; Neagu și colab., 2010b, 2017; Păun și colab., 2011, 2012; Ben Jemia și colab., 2013; Santos și colab., 2013; Graça și colab., 2016b, 2017; Shawarb, 2017; Ilic și colab., 2021; Bawish și colab., 2023). Cu toate că există diferențe între rezultatele obținute în aceste cercetări, concluzia unanimă este capacitatea antioxidantă semnificativă a extractelor de *G. robertianum*.

În literatura de specialitate au fost identificate doar 4 studii care fac referire la activitatea antiinflamatoare a acestei specii (Amaral și colab., 2009; Piwowarski și colab., 2011, 2014; Catarino și colab., 2017).

1.3. Biologia speciei *Leonurus cardiaca* L. - istoricul cercetărilor

1.3.1. Utilizare

Leonurus cardiaca L. este o plantă oficială, a cărei beneficii asupra sistemelor cardiovascular, nervos și reproducător feminin sunt cunoscute încă din Antichitate atât în medicina tradițională a Asiei, cât și a Europei (Sermukhamedova și colab., 2017; Fierascu și colab., 2019). Ulterior, potențialul medicinal al speciei a fost recunoscut și de medicina modernă, fiind introdusă în majoritatea Farmacopeilor lumii și utilizată în prepararea a numeroase suplimente alimentare (Fierascu și colab., 2019; Sadowska și colab., 2019).

În medicina convențională se recomandă utilizarea primilor 40 cm din vârful herbei de *Leonurus cardiaca* L., porțiune recoltată la începutul înfloririi, sub formă integrală sau uscată și mărunțită. Unele farmacopei, cum sunt cele ale Națiunilor Commonwealth-ului și Farmacopeea Rusă, consideră utilizabile și materialul brut recoltat de la *Leonurus quinquelobatus* Gilib. ex. Usteri, sau *Leonurus villosus* Desf. ex Spreng. Această precizare se datorează faptului că înainte de sfârșitul secolului al XX-lea, *L. villosus* era considerată o subspecie a speciei *L. cardiaca*, iar *L. quinquelobatus* un sinonim al denumirii *L. cardiaca* L. (Shikov și colab., 2014, mai mulți autori citați de Sermukhamedova și colab., 2017).

Începând din anii 1930 au fost efectuate mai multe cercetări asupra compoziției fitochimice și activităților biologice a mai multor specii de *Leonurus*, în principal *L. japonicus* (din Asia), *L. cardiaca* (din Europa), *L. persicus* (Iran și Turcia) și *L. sibiricus* (din Mongolia și Siberia), uneori alte specii minore (*L. rurkestanicus*, *L. glaucescens* și *L. macranthus*) (Zhang, 2018). În literatura de specialitate există uneori confuzii între specii pe de o parte de ordin taxonomic, în timp fiind demonstrate diferențe între plante recunoscute ulterior ca fiind specii diferite, de exemplu *L. japonicus* și *L. sibiricus* (Pitschmann și colab., 2017), iar pe de altă parte confuzii referitoare la compoziția chimică, fiind citate informații cu privire la prezența unor compuși sau activități biologice la o anumită specie, în timp ce sursele originale fac referire la alte specii.

În Medicina Tradițională Chinezească (TCM) se utilizează de la *L. japonicus*, organele aeriene uscate (*Leonuri herba* sau Yimucao) și uneori fructele uscate (Chong-Wei-Zi) (Zhang și colab. 2018; Lam și colab., 2022). Cunoscută ca „planta benefică mamelor”, aceasta este întrebuințată de secole în tratarea afecțiunilor ginecologice și obstetrice (Zhang și colab., 2018; Lam și colab., 2022). Mențiuni similare sunt regăsite în literatură pentru *L. cardiaca*, dar aceasta este notată ca *Leonuri cardiaca herba* (EMA, 2010), ușor de confundat cu *Leonuri herba* (*L. japonicus*), mai ales când nu este specificată denumirea latină, astfel încât există posibilitatea unei confuzii în literatură între cele două specii. Zhang și colaboratorii (2018) sunt printre puținii autori care subliniază că planta denumită popular „motherwort”, aplicată în China în afecțiunile ginecologice și în Europa în afecțiunile cardiace și nervoase, se referă de fapt la două specii diferite *L. japonicus*, respectiv *L. cardiaca*.

Literatura de specialitate menționează utilizarea alimentară a speciei ca și condiment în supe vegetale (de linte, mazăre etc.), pentru aromatizarea berii și ceaiurilor (Shikov și colab., 2017 citat de Fierascu și colab., 2019). În acest scop fiind utilizate florile proaspete sau uscate (Facciola, 1990).

1.3.2. Cercetări farmacologice și farmacocinetice

În literatura de specialitate activitățile biologice ale speciei *L. cardiaca* sunt prezentate odată prin prisma cercetărilor originale și studiilor clinice efectuate asupra preparatelor din *L. cardiaca* și odată prin prisma efectelor observate în studii asupra compușilor izolați.

Activitatea cardiovasculară se află la baza principalelor aplicații ale speciei *L. cardiaca* (Fierascu și colab., 2019).

Până în prezent au fost raportate mai multe efecte ale preparatelor din *L. cardiaca* și ale compușilor izolați asupra sistemului nervos, inclusiv efecte analgezice, sedative, anxiolitice și antidepresive (Rezaee-Asl și colab., 2014; Rauwald și colab., 2015; Liu și colab., 2016; Zhang și colab., 2018; Koshovyi și colab., 2021).

De asemenea, a fost studiată activitatea antimicrobiană și antivirală a speciei (Agnihotri și colab., 2008; Tahmouzi și Ghodsi, 2014; Samoilova și colab., 2014; Todorov și colab., 2014; Micota și colab., 2016).

Alte aplicații medicinale ale speciei au la bază efectul nefroprotector, hepatoprotector, genoprotector și cel antigenotoxic (Xu și colab., 2014; Cheng și colab., 2015; Pereira și colab., 2019; Angeloni și colab., 2021; Oalde și colab., 2021).

1.3.3. Compoziție chimică

Având în vedere utilizarea din medicina tradițională și convențională a produsului *Leonurus cardiaca herba*, reprezentat de părțile aeriene ale plantei recoltate în perioada de înflorire, cercetările efectuate asupra compoziției chimice ale speciei au vizat în principal organele aeriene în ansamblul lor și mai puțin individual. Până în prezent au fost identificate mai multe tipuri de compuși bioactivi, inclusiv terpene, compuși azotați, fenilpropanoizi, flavonoide, fenoli și în cantități mici uleiuri volatile, steroli și taninuri (Wojtyniak și colab., 2012), iar studiile recente continuă să identifice compuși a căror prezență în *L. cardiaca* a fost incertă sau chiar negată (EMA, 2010; Angeloni și colab., 2021).

1.3.4. Potențial antioxidant și antiinflamator

Conform Ali și colaboratorii (2007), acidul ursolic izolat din extractul etanolic de *L. cardiaca* are un potențial antiinflamator comparabil cu aspirina și indometacinul, dar și activitate antioxidantă. Activitatea antiinflamatoare a diferitelor extracte obținute din *L. cardiaca* este susținută de studiile efectuate de Flemming și colab., 2015; Sadowska și colab., 2017 și Wu și colab., 2018.

Activitatea antioxidantă a fost mai bine studiată decât cea antiinflamatoare, existând diferențe semnificative între rezultatele obținute. Per ansamblu, activitatea antioxidantă a speciei este considerată ca fiind moderată sau slabă (Matkowski și colab., 2006; Armatu și colab., 2010; Jafari și colab., 2010; Ebrahimzadeh și colab., 2010b; Yi și Wetzstein, 2011; Tahmouzi și Ghodsi, 2014; Zhogova și colab., 2014; Sadowska și colab., 2017; Ji și colab., 2017; Ziyatdinova și colab., 2017, 2018; Pereira și colab., 2019; Oalde și colab., 2021; Angeloni și colab., 2021).

1.4. Biologia speciei *Oenothera biennis* L. - istoricul cercetărilor

1.4.1. Utilizare

Numele modern al genului *Oenothera* a fost oferit de Carl Linnaeus în lucrarea sa *Systema Naturae* din anul 1735. Denumirea speciei „*biennis*” vizează ciclul de viață bienal (Steckel și colab., 2019). Denumirea din limba engleză „Evening-primrose”, respectiv cea din limba română „Luminița nopții” face trimitere la florile care se deschid la apus (Britton și Brown, 1898 citat de Steckel și colab., 2019). Sugestive sunt și denumirile din limba engleză „King’s cure-all”, „Fever plant” (Calapai și colab., 2015), care amintesc de perioada în care planta era considerată un leac universal, respectiv utilizarea în tratarea febrei.

Având în vedere originea speciei pe continentul American, începuturile utilizării sale sunt înscrise în practicile medicinale și alimentare ale nativilor americani. Deși în prezent cea mai utilizată parte a plantei este reprezentată de semințe, din care se extrage uleiul bogat în acizi grași esențiali, comercializat ca supliment alimentar sau ingredient în diverse produse (cosmetice, farmaceutice etc.), iar literatura de specialitate abundă în studii asupra compoziției și activității lor biologice, acestea nu aveau aplicație în medicina tradițională (Balch, 2000, Kuhns și Winston, 2008, Stonemetz, 2008). În schimb, întreaga plantă era întrebuințată în tratarea inflamațiilor din organism și diverselor boli asociate (EMA, 2018a), în obținerea unui unguent aplicat topic pe leziuni ale pielii; frunzele, florile și învelișul extern al rădăcinii erau folosite pentru tratarea tusei spastice, a sindromului de colon iritabil, iar împreună cu *Hypericum perforatum* și *Veronicastrum virginicum*, pentru depresia asociată afecțiunilor gastrointestinale (Kuhns și Winston, 2008, EMA, 2018a).

Este important de menționat că în numeroase studii privind fitocompoziția și activitatea biologică a speciei, plantele nu au fost recoltate din zonele ce corespund așezărilor nativilor americani care utilizau specia. Adesea, plantele sunt recoltate din alte regiuni în care crește nativ sau în care a fost introdusă și naturalizată, ceea ce poate influența semnificativ compoziția chimică, respectiv activitatea biologică, sub acțiunea diferitelor condiții climatice și geografice (Vanhaelen și colab., 1991, Setzer, 2018).

În Europa au fost introduse la începutul anilor 1700 câteva specii de *Oenothera*, printre care și *O. biennis*, care pentru multă vreme a fost cercetată intensiv nu din perspectivă medicinală, ci ca model în studii de genetică și citogenetică, servind un rol important în dezvoltarea biologiei și ecologiei evoluționiste (Balch, 2000, Johnson, 2011). Conform EMA (2018a), specia a fost inițial introdusă în Europa în scop medicinal, devenind un remediu popular în special în Marea Britanie.

În anul 2018, uleiurile de *O. biennis* L. și de *O. lamarckiana* L. au fost incluse în Monografia Uniunii Europene privind plantele medicinale (European Union herbal monograph). EMA a aprobat utilizarea uleiului obținut din semințele acestor două specii prin extracție cu solvenți sau presare pentru calmarea simptomelor de mâncărimi și iritații pe termen scurt sau lung, asociat condițiilor de piele uscată la persoane cu vârsta de peste 12 ani, prin administrarea orală a unor doze (2-3 g, sau 4-6 g doza zilnică) (EMA 2018a). Cu toate că *O. lamarckiana* este o denumire invalidă, a fost decisă menționarea ei în Monografia Europeană pentru a recunoaște utilizarea ocazională în referirea la specia *O. glazioviana* Micheli (sinonim *O. erythrosepala*) (Calapai, 2015, WFO, 2024). Uleiul din semințe de *O. biennis* este recunoscut și ca ingredient în produse cosmetice, alături de extracte din flori, frunze, rădăcini și lăstari, fiecare fiind înregistrat cu propriul număr CAS (Calapai și colab., 2015).

În China, un prim studiu privind compoziția chimică a uleiului din semințe de la planta din flora spontană și posibile utilizări a fost efectuat în anul 1962. Studii independente asupra uleiului și acidului gama-linolenic au început în anul 1980, în paralel cu cele efectuate în țările Occidentale, dar mai puțin cunoscute decât acestea, datorită publicării în limba chineză. Rezultatele au condus la aprobarea în anul 1986 două medicamente, pentru care ulterior au fost dezvoltate echivalente licențiate în Occident pentru tratarea eczemei, dermatitei atopice și mastalgiei (Deng și colab., 2001; Calapai și colab., 2015, EMA, 2018a). După anul 1989 au fost create emulsii și alte produse medicinale, cu indicații variate, de la diabet la sindrom premestruial, iar studiile au continuat pentru utilizarea GLA în tratarea bolilor inflamatorii, a nefrozelor, obezității și hiperlipidemiilor (Deng și colab., 2001).

Conform celor citate de Hather în 1988, rădăcinile de *O. biennis* sunt comestibile, au valoare nutrițională (Medsger, 1939) și pot fi consumate începând de la finalul toamnei până primăvara devreme (Morton, 1963). Nativii americani introduceau în alimentație semințele, rădăcinile și frunzele tinere (Kuhn și Winston, 2008).

1.4.2. Cercetări farmacologice și farmacocinetice

Potențiala utilizare a speciei în tratarea diabetului și a afecțiunilor conexe a fost explorată în principal prin prisma activității biologice a uleiului din semințe (EPO) și a acidului gama-linolenic izolat (GLA) (Doormaal și colab., 1988; Arisaka și colab., 1991; Cameron și colab., 1991; Oon și colab., 1992; Stevens și colab., 1993a; Fang și colab., 1997; Söğütlü și colab., 2019; Mert și colab., 2022). Activitatea extractelor din semințele de *O. biennis* este mai puțin studiată (Aitani și colab., 2003; Wang și colab., 2019, 2021).

În literatura de specialitate sunt prezente mai multe studii care arată acțiunea uleiului din semințe de *O. biennis* (EPO) asupra sistemului circulator, adesea în contextul patologiei diabetului zaharat (Uccella și colab., 1989; Singer și colab., 1990; Stevensen, 1993b; Sadi și colab., 1996; Fan și colab., 1996, 2001; De la Cruz și colab., 1997; Villalobos și colab., 1998; Jack și colab., 2002; Riaz și colab., 2009; Zaitone și colab., 2011; Zaitone și colab., 2011; Zaitone și colab., 2011; Mosaad și colab., 2017; Andjic și colab., 2021).

Mai multe studii arată că EPO crește nivelul de HDL colesterol și reduce nivelul trigliceridelor din ser (Singer și colab., 1986; Sugano și colab., 1986; Uccella și colab., 1989; Singer și colab., 1990; Fragoso și Skinner, 1992; De la Cruz și colab., 1997; Vilallobos și colab., 1998; Khorshidi și colab., 2020; Mert și colab., 2022). Majoritatea studiilor arată și o reducere a colesterolului total (Singer și colab., 1990; Sadi și colab., 1990; De la Cruz și colab., 1997; Fukushima și colab., 1997; Vilallobos și colab., 1998).

EPO este eficient în tratarea neuropatiilor asociate diabetului (Tomlinson și colab., 1989; Cameron și colab., 1991; Lockett și Tomlinson, 1992; Dines și colab., 1995; Karasu și colab., 1995; Julu, 1996; Kuruvilla și colab., 1998; Head și colab., 2000; Ford și colab., 2001; Omran, 2012).

În combinație cu uleiul de cânepă, EPO a fost eficient în tratarea encefalomielitei autoimune la șoareci, prin modularea unor factori de transcripție imunologici și stimularea remielinizării măduvei spinării (Rezapor-Firouzi și colab., 2020).

Activitatea antitumorală a EPO, a compușilor izolați din rădăcini și a unor extracte din semințe și din organele aeriene este susținută de mai multe studii (Yoshida și colab., 1991; Arimura și colab., 2003a,b, 2004, 2005; Pellegrina și colab., 2005; Singh și colab., 2017; Fecker și colab., 2020; Lee și colab., 2022; Abd-Alhaseeb și colab., 2022; Zeppa și colab., 2022; Ciszewski și colab., 2022; Chmielewska-Kassassir și colab., 2023; Lee și colab., 2024).

Extractele obținute din semințe și din frunze, uleiul de Luminița Noptii și compuși izolați din această specie prezintă activitate antimicrobiană (Borchardt și colab., 2009; Matsumoto-Nakano și colab., 2011; Cybulska și colab., 2011; Singh și colab., 2012; Kim și colab., 2015). și antifungică (Shukla și colab., 1999).

Meta-analiza realizată de Morse și colaboratorii în anul 1989 asupra 9 studii clinice, susține eficiența EPO în tratamentul dermatitei atopice.

1.4.3. Compoziție chimică

Conform literaturii de specialitate, plantele aparținând genului *Oenothera* reprezintă surse pentru o varietate de compuși bioactivi precum acizi fenolici, flavonoide, biflavonoli, triterpene, saponine, alcaloizi, tocoferoli, steroli (Munir și colab., 2017), dar și surse de lipide și carbohidrați importanți pentru buna funcționare a organismului (Singh și colab., 2012). În cazul speciei *O. biennis* L., cele mai multe cercetări au fost efectuate asupra compoziției semințelor și produselor derivate din acestea (șrot, turte), în special a uleiului din semințe (EPO), care prezintă interes economic și medicinal deosebit. Interesul pentru EPO se datorează prezenței în compoziția acestuia a acizilor grași esențiali omega-6, acidului linoleic și acidului gama-linolenic, alături de alți compuși bioactivi, cum ar fi triterpene, acizi fenolici, tocoferoli, fitosteroli (Farag și colab., 2023). Un număr mai redus de studii adresează compoziția frunzelor, rădăcinilor, organelor aeriene și plantei întregi (Zinsmeister și Bartl, 1971; Miyazawa și colab., 1978; Krzaczek și Bogucka-Kocka, 1994; Krzaczek și colab., 1995; Shuckla și colab., 1999; Lakshman și colab., 2014; Noge și Tamogami, 2018; Sultana și colab., 2018).

1.4.4. Potențial antioxidant și antiinflamator

Efectul antioxidant al extractelor din herba, semințe, șrot, compuși derivați și ulei din semințe a fost evaluat de Budinčević și colab., 1995; Shahidi și colab., 1997; Muñoz și colab., 1998; De La Cruz și colab., 1999; Birch și colab., 2001; Hamburger și colab., 2002; Šardžiková și colab., 2002; Peschel și colab., 2007; Borchardt și colab., 2008; Ratz-Łyko și colab., 2013; Granica și colab., 2013; Selek și colab., 2018; Fecker și colab., 2020; Wang și colab., 2021. Oenotheralanosterol A și B, oenotherafenoxilacetona și dihidroxipenil xantona izolați din rădăcini, respectiv extractul hidroetanolic din germeni au activitate antioxidantă și antiinflamatoare (Singh și colab., 2012; Ahmad și colab., 2014; (Kwak și colab., 2021).

Activitatea antiinflamatoare a speciei a fost evidențiată într-o serie de studii *in vitro*, *in vivo*, respectiv studii clinice (Hamburger și colab., 2002; Singh și colab., 2012; Montserrat de la Paz și colab., 2012, 2014a; Ratz-Łyko și colab., 2015; Ma și colab., 2020; Fecker și colab., 2020; Mert și colab., 2022; Kim și colab., 2021a,b; Kwak și colab., 2021). Conform studiilor clinice analizate de Sharifi și colaboratorii în 2024, există dovezi care să susțină beneficiile utilizării uleiului din semințe în afecțiuni inflamatorii precum diabet zaharat, eczemă, mastalgie, artrită reumatoidă și puseuri de căldură asociate menopauzei.

CAPITOLUL 2

CARACTERIZARE GENERALĂ A SPECIILOR LUATE ÎN STUDIU

*2.1. Caracterizare botanică a speciei *Tussilago farfara* L.*

2.1.1. Încadrare taxonomică

Regnul - *Plantae*

Divizia - *Tracheophyta*

Subdivizia - *Spermatophytina*

Clasa - *Magnoliopsida*

Superordinul - *Asteranae*

Ordinul - *Asterales*

Familia - *Asteraceae* Giseke

Tribul - *Senecioneae* Cass.

Genul - *Tussilago* L.

Familia *Asteraceae* Berchtold și J. Presl (*Compositae* Giseke) cuprinde 16 subfamilii cu 2675 de genuri, reprezentate în mare parte de specii erbacee anuale, bienale sau perene, ocazional arbuști, subarbuști, plante agățătoare și arbori.

Genul *Tussilago* L. este parte din Familia *Asteraceae* Giseke (WFO, 2023), Subfamilia *Asterioideae*, Tribul *Senecioneae* Cass (Greuter, 2006+). Conform bazelor de date The Plant List (Greuter, 2006+) și WFO (2023), în Genul *Tussilago* sunt incluse mai multe specii, dintre care singurul nume de specie acceptat este *Tussilago farfara* L., restul denumirilor fiind considerate sinonime sau aparțin unor specii neevaluate.

2.1.2. Caracteristici morfologice ale speciei *Tussilago farfara* L.

Cea mai completă descriere morfologică a speciei este oferită de Săvulescu în anul 1964, în *Flora României*. Alte aspecte morfologice sunt menționate în literatura de specialitate de Akçin (2007), Świeboda și colab., 1975, Myerscough și colab., 1966, Gaffal, 2007, Upton și colab., 2011, Nedelcheva și colab., 2015 și WFO, 2023. Aspecte din morfologia speciei sunt prezentate în Figura 2.1.



Fig. 2.1. *Tussilago farfara* L. – aspecte morfologice. A – inflorescență, B – tulpini florifere, rizom și rădăcini adventive, C – frunze și rizom, D – rizom cu muguri. (Poze originale)

2.1.3. Caracteristici anatomice ale speciei *Tussilago farfara* L.

2.1.3.1. Aspecte de structură

Din punct de vedere anatomic, specia este descrisă de mai mulți autori (Świeboda și colab., 1975; Toma și Rugină, 1998; Akçin, 2007; Upton și colab., 2011; Nedelcheva și colab., 2015; Rodideal și colab., 2021; Akhtar și colab., 2022).

2.1.3.2. Aspecte de ultrastructură

La nivel de ultrastructură, perii glandulari ai limbului foliar au fost descriși de Muravnik și Kostina în perioada 2014 - 2016.

2.1.4. Distribuție și habitat

Tussilago farfara L. este o specie cu distribuție eurasiatică, extinzându-se din est de la Insulele Britanice până în Siberia și din zona de nord-vest a Africii până spre Cercul Arctic. Nativă în cea mai mare parte a Europei cu excepția Portugaliei, a fost introdusă și naturalizată în alte zone ale lumii (Islanda, Statele Unite, Canada) (Myerscough și colab., 1966; Greuter, 2006+).

Conform mai multor autori citați de Myerscough și colaboratorii (1966), *T. farfara* L. se dezvoltă în condiții variate de substrat, de climă și în diverse comunități vegetale. În România este larg răspândită din regiunea de câmpie și până în cea montană (Săvulescu, 1964; Sârbu și colab., 2013).

Preferințele ecologice ale speciei sunt sintetizate în tabelul 2.1. împreună cu valorile indicelui Ellenberg.

Tabel 2.1.

Preferințe ecologice ale speciei *T. farfara* L. (d. Chytrý M. și colab., 2018; Păcurar, 2020)

Specie	Aspect evaluat						Referințe
	Bioforma	Indice de lumină	Ind. de temperatură	Ind. de umiditate	Ind. de reacție	Ind. de troficitate (azot)	
		*VIE - Interpretare	*VIE - Interpretare	*VIE - Interpretare	*VIE - Interpretare	*VIE - Interpretare	
<i>Tussilago farfara</i> L.	G geofită	8 - heliofilă	5 - mezo-termă	6 - mezofilă	7 - neutrofilă	6x - mezotrofă (mediu nitrofilă), euritrofă	Chytrý M. și colab., 2018; Păcurar, 2020

*VIE – valoarea indicelui Ellenberg (1991, 1992) cu interpretare după Chytrý M. și colab., 2018 și Păcurar, 2020

2.2. Caracterizare botanică a speciei *Geranium robertianum* L.

2.2.1. Încadrare taxonomică

Regnul - *Plantae*

Divizia - *Tracheophyta*

Subdivizia - *Spermatophytina*

Clasa - *Magnoliopsida*

Superordinul - *Rosanae*

Ordinul – *Geraniales* Juss. ex Bercht. & J. Presl

Familia – *Geraniaceae* Juss.

Genul - *Geranium* L.

Familia Geraniaceae Juss. cuprinde 14 Genuri, reprezentate de plante erbacee, anuale sau perene, rar arbuști sau subarbuști (WFO, 2023).

Genul *Geranium* L. face parte din Familia Geraniaceae Juss. și are în subordine 436 de taxoni. Acest gen cuprinde specii erbacee, anuale, bienale și perene, rar arbuști și subarbuști (WFO, 2023). În România, Săvulescu (1958), menționează doar prezența speciilor erbacee. Conform conspectului efectuat de Tofts (2004), în Genul *Geranium*, Subgenul *Robertium* Picard, Secțiunea *Ruberta* Dumontier, unii specialiști recunosc 3 subspecii, *robertianum*, *maritimum* (Bab.) H. G. Baker și *celticum* Ostenf., dar alții (Stace, 1997) consideră că diferențele semnalate nu sunt de valoare taxonomică semnificativă.

Specia *Geranium robertianum* L. este inclusă în Genul *Geranium* L., cu două subspecii, *G. robertianum* subsp. *celticum* și *G. robertianum* var. *genuinum* Gren. & Godr. Descrisă pentru prima dată de Carl Linnaeus în anul 1753 în *Species Plantarum*.

2.2.2. Caracteristici morfologice ale speciei *Geranium robertianum* L.

Specia *G. robertianum* prezintă o capacitate extraordinară de adaptare și variabilitate morfoanatomică și genetică între populații, fiind sugerată existența ecotipurilor (Tofts, 2004; Bozchaloyi și colab., 2017). Prin urmare, descrierile morfologice din literatura de specialitate sunt mai mult sau mai puțin diferite. Se menționează variații ale gradului de

pilozitate, diferențe ale părților florale, tulpini erecte sau prostrate (Tofts, 2004) și număr variat al fasciculelor conducătoare din pețiol (Rybak și colab., 2014). În afară de pilozitate, Săvulescu menționează în anul 1958 variații în lungimea pețiolului, diametrul florilor și raportul dintre petale și sepale și face distincție între 7 subspecii prezente în flora României. Populațiile în sine sunt adesea uniforme, dar se remarcă diferențe între populații (Tofts, 2004). Variabilitatea poate să fie indusă de condițiile de mediu, însă unele trăsături cu importanță taxonomică sunt determinate genetic, cum ar fi nivelul de pilozitate (Baker, 1956). Plantele care cresc în proximitate una de alta tind să rămână distincte, ca urmare a autopolenizării (Yeo, 1985). Variabilitatea morfoanatomică a speciei a condus în timp la definirea unor forme, subspecii și diverse clasificări (Săvulescu, 1958; Tofts, 2004; Salimpour și colab., 2009; Bozchaloyi și Zaman, 2018). Baza de date WFO (2023) prezintă descrieri mai mult sau mai puțin similare ale speciei conform surselor din Flora Chinei (FOC), Pakistanului (FOP), Statelor Unite (Gleason și Cronquist, 1991) și Braziliei (Reflora).

Aspectul morfologic al plantelor de *G. robertianum* L. aparținând populațiilor analizate în prezenta teză de doctorat este prezentat în Figura 2.2.



Fig. 2.2. *Geranium robertianum* L. – aspecte morfologice. A, C – rozetă de frunze, B,E –aspectul frunzelor, florilor și fructelor, D – porțiuni de rădăcină și ramificații ale tulpinii cu frunze și fructe. (Poze originale)

2.2.3. Caracteristici anatomice ale speciei *Geranium robertianum* L.

2.2.3.1. Aspecte de structură

Subgenul *Geranium* L. cuprinde peste 370 de specii grupate în secțiuni în funcție de caractere morfoanatomice precum organe subterane de tip tubercul sau rizom, secțiunea palmată a frunzelor sau lipsa acestor aspecte, organizarea nodală și caracterele fructelor (Salimpour și colab., 2009). Salimpour și colaboratorii au încadrat în anul 2009 specia *G. robertianum* la specii cu rizom.

Paolillo analizează în anul 2006 anatomia rădăcinii la *G. robertianum*, concentrându-se pe relațiile structurale dintre rădăcina principală și ramificațiile ei pe parcursul creșterii secundare. Rybak și colaboratorii descriu în anul 2014 aspecte anatomice ale limbului foliar și pețiolului.

2.2.3.2 Aspecte de ultrastructură

Pedro și colaboratorii identifică în anii 1990 - 1991 3 tipuri de peri glandulari uniseriați, care se dezvoltă prin diviziuni periclinale dintr-o singură celulă din protoderm.

Cercetările de ultrastructură la *G. robertianum*, în baza imaginilor TEM și/sau SEM vizează în principal elementele florale (Weber, 1996a, b; Sexton și colab., 1983; Yeo, 2004; Endress, 2010; Bozchaloyi și Zaman, 2018).

2.2.4. Distribuție și habitat

O prezentare comprehensivă a distribuției și habitatului speciei *G. robertianum* L. este oferită de Tofts în anul 2004. Specia are o distribuție largă în Europa, fiind nativă în majoritatea țărilor, inclusiv în România, naturalizată mult în afara ariei native (Tofts, 2004; Euro+Med Plantbase).

Plantă ruderală, cu amplitudine ecologică mare, crește în biomiuri de la mediteranean la boreal, în condiții care variază de la oceanic la continental (Tofts, 2004). Ellenberg și colaboratorii o încadrează în anul 1991 ca specie intermediară între oceanic și suboceanic, iar Preston și Hill în anul 1997 ca temperat europeană. În România este comună în toată țara în păduri umede și umbroase, în special cele de fag și de molid, rar în cele de stejar (Săvulescu, 1958), în asociațiile vegetale *Stipion calamagrostis*, *Galio-Urticetea*, *Fagetalia*, *Tilio-Acerion* (Sârbu și colab., 2013).

G. robertianum este o specie hemicriptofită sau terofită, cu mare capacitate de adaptare la condițiile de mediu, fiind descrisă în literatura de specialitate ca plantă mezoheliofobă până la mezosciafilă, mezotermă sau euritermă, mezofilă sau eurifilă, slab-acidofilă sau

euriacidofilă, eutrofă sau nitrofilă (Tofts, 2004; Chytrý M. și colab., 2018; Păcurar, 2020;). Încadrată ca intermediară între ruderală și competitiv-stres-tolerantă-ruderală (Grime și colab., 1988; Tofts, 2004). Preferințele ecologice ale speciei sunt sintetizate în tabelul 2.3. împreună cu valorile indicelui Ellenberg.

Tabel 2.3.

Preferințe ecologice ale speciei *G. robertianum* L. (d. Chytrý M. și colab., 2018; Păcurar, 2020)

Specie	Aspect evaluat						Referințe
	Bioforma	Indice de lumină	Ind. de temperatură	Ind. de umiditate	Ind. de reacție	Ind. de troficitate (azot)	
		*VIE - Interpretare	*VIE - Interpretare	*VIE - Interpretare	*VIE - Interpretare	*VIE - Interpretare	
G. robertianum L.	H, TT hemicriptofită, terofită	4, 5x - mezo-heliofobă, mezo-sciafilă	X, 5 - mezo-termă, euritermă	X, 6x - mezofilă, eurifilă	X, 6x - slab-acidofilă, euriacidofilă	7 - eutrofă, nitrofilă	Tofts, 2004; Chytrý M. și colab., 2018; Păcurar, 2020

*VIE – valoarea indicelui Ellenberg (1991, 1992) cu interpretare după Chytrý M. și colab., 2018 și Păcurar, 2020

2.3. Caracterizare botanică a speciei *Leonurus cardiaca* L.

2.3.1. Încadrare taxonomică

Regnul - *Plantae*

Divizia - *Tracheophyta*

Subdivizia - *Spermatophytina*

Clasa - *Magnoliopsida*

Superordinul - *Asteranae*

Ordinul – *Lamiales* Bromhead

Familia – *Lamiaceae* Martinov

Genul - *Leonurus* L.

Familia Lamiaceae are în subordine 316 taxoni, de regulă plante ierboase, unori arbuști sau subarbuști, plante anuale sau perene și adesea aromatice. Element caracteristic este forma tulpinii sau a ramurilor, de regulă tetramuchiata (WFO, 2023).

Conform bazei de date World Flora Online (2023), Genul *Leonurus* L. cuprinde 33 de taxoni. Plante ierboase anuale, bienale sau perene, cu creștere erectă, cu frunze 3-7 lobate, cele de la bază palmat-lobate, iar cele tulpinale întregi, cu incizii sau trilobate, și inflorescențe verticilate cu numeroase flori, formând spice lungi (WFO, 2023).

Leonurus cardiaca L. este numele speciei recunoscut oficial în prezent acesta prezentând 24-26 de sinonime (Euro+med; WFO, 2023).

2.3.2. Caracteristici morfologice ale speciei *Leonurus cardiaca* L.

Leonurus cardiaca L. este descrisă de Săvulescu în anul 1961 în flora României. În literatura de specialitate internațională este descrisă de Gleason și Croquist în anul 1991, în Flora Pakistanului și Flora Helvetica, incluse în baza de date WFO (2023), dar și de Sermukhamedova și colaboratorii în anul 2017. În Figura 2.3. sunt prezentate aspecte din morfologia plantelor de *L. cardiaca* L. analizate în cadrul cercetărilor originale.



Fig. 2.3. *Leonurus cardiaca* L. – aspecte morfologice. A – plantă întreagă, B – tulpini cu frunze, flori și fructe cu evidențierea polimorfismului foliar, D – vârf de tulpină cu inflorescențe și fructe. (Poze originale)

Taxonomia speciei a cunoscut de-a lungul timpului controverse legate de divizarea speciei în subspecii, cu toate că în baze de date precum The Plant List, acestea sunt considerate adesea sinonime cu *L. cardiaca*, fără a exista studii de ansamblu, cu excepția unor descrieri din Flora locală sau regională (Soorni și colab., 2014). Forma frunzelor și pubescența sunt considerate caractere esențiale în diferențierea speciei (Soorni și colab., 2014).

2.3.3. Caracteristici anatomice ale speciei *Leonurus cardiaca* L.

2.3.3.1. Aspecte de structură și ultrastructură

Anatomia speciei *Leonurus cardiaca* L. este slab reprezentată în literatura de specialitate. Datele existente se rezumă la nivelul tulpinii, frunzei și florilor. Datorită particularităților structurale ale tulpinii, specia este un reper pentru construcțiile biomimetice (Kaminski și colab., 2019).

Referitor la structura organelor subterane nu au fost găsite informații în literatura de specialitate.

2.3.4. Distribuție și habitat

Leonurus cardiaca L. este o specie răspândită în zona mediteraneană, atlantică, în Europa Centrală și de Est, Anatolia, Mongolia, China; este specie invazivă în America de Nord și în curs de răspândire în partea de sud și vest a Siberiei (Chikov, 1983 citat de Sermukhamedova și colab., 2017). Conform Vermeil (2002), specia este originară din Asia și naturalizată în Europa în ultimul mileniu. Larg răspândită cu excepția regiunii nordice, a zonelor semideșertice și deșertice (Sermukhamedova și colab., 2017). Preferă condițiile eco-fitocenotice din regiunea Baltică și a Belarusului, fiind considerată specie caracteristică (Muravyova și colab., 2002). Crește pe marginea drumurilor, în locuri perturbate cum sunt locurile virane, cu dărămături, gunoaie și locuri ruderaie (Săvulescu, 1961), tăieturi de pădure, plantații, din silvostepă până în etajul gorunului, în asociațiile vegetale *Artemisietea* și *Stellarietea mediae* (Sârbu și colab., 2013).

Specie hemicriptofită, heliofilă, mezotermă, cu cerințe medii față de indicii de umiditate, neutrofilă și nitrofilă sau eutrofă (Tabel 2.4.).

Tabel 2.4.

Preferințe ecologice ale speciei *L. cardiaca* L. (d. Chytrý M. și colab., 2018; Păcurar, 2020)

Specie	Aspect evaluat						Referințe
	Bioforma	Indice de lumină	Ind. de temperatură	Ind. de umiditate	Ind. de reacție	Ind. de troficitate (azot)	
		*VIE - Interpretare	*VIE - Interpretare	*VIE - Interpretare	*VIE - Interpretare	*VIE - Interpretare	
<i>Leonurus cardiaca</i> L.	H hemicriptofită	7 - mezo-heliofilă	6 - mezo-termă	5 - mezofilă	7 - neutrofilă	8 - eutrofă (nitrofilă)	Chytrý M. și colab., 2018; Păcurar, 2020

*VIE – valoarea indicelui Ellenberg (1991, 1992) cu interpretare după Chytrý M. și colab., 2018 și Păcurar, 2020

2.4. Caracterizare botanică a speciei *Oenothera biennis* L.

2.4.1. Încadrare taxonomică

Regnul - *Plantae*

Divizia - *Tracheophyta*

Subdivizia - *Spermatophytina*

Clasa - *Magnoliopsida*

Superordinul - *Rosanae*

Ordinul – *Myrtales* Juss. ex Bercht. & J. Presl

Familia – *Onagraceae* Juss.

Genul - *Oenothera* L.

Familia Onagraceae Juss. are în subordine 23 de Genuri și cuprinde plante anuale sau perene, uneori arbuști, rar arbori de până în 30 m înălțime. Speciile de Onagraceae conțin

adesea celule epidermice oleifere și floem intern, iar cu excepția Genului *Ludwigia*, tub floral distinct și nectarifer (WFO, 2023).

Conform Săvulescu (1957), Genul *Oenothera* L. cuprinde 100-140 de specii răspândite din America de Nord. Alte surse menționează cca. 200 (Flora de Panama, 2013), respectiv 168 de taxoni (WFO, 2023). Genul cuprinde plante erbacee sau subarbuști (Săvulescu, 1957). Speciile sunt majoritatea poliploide, cu mutații ocazionale, recombinații și hibridizări frecvente, astfel că în timp au dat naștere la fenotipuri noi (Renner, 1942).

Oenothera biennis L. este denumirea oficială curentă (WFO, 2023).

2.4.2. Caracteristici morfologice ale speciei *Oenothera biennis* L.

Morfologia speciei este descrisă de Săvulescu în volumul V din Flora României din anul 1957. În afara țării Hall și colaboratorii prezintă, în anul 1988, morfologia speciei din Canada, în completarea unor lucrări din perioada 1950-1970. Descrierile realizate de Gleason și Croquist (1991); Zomlefer (1994); Miller și Miller (1999); Bryson și DeFelice (2010) și Wagner (2017) au fost conspectate de Steckel și colaboratorii în anul 2019. Morfologia și biologia reproductivă a speciei cultivate în India este redată de Thakur și colaboratorii în anul 2019. World Flora Online (2023) oferă în plus, o serie de descrieri morfologice din diverse alte baze de date. Figura 2.4. prezintă aspecte din morfologia plantelor aparținând populațiilor din flora României analizate în prezenta teză de doctorat.



Fig. 2.4. *Oenothera biennis* L. – aspecte morfologice. A – tulpină floriferă, B – aspectul tulpinii și al frunzelor caulinare, C – rozetă de frunze. (Poze originale)

2.4.3. Caracteristici anatomice ale speciei *Oenothera biennis* L.

2.4.3.1. Aspecte de structură

Literatura de specialitate oferă puține informații referitoare la anatomia speciei *Oenothera biennis* L. Sunt disponibile imagini ale coletului și tulpinii într-un atlas de anatomie vegetală (Schweingruber și colab., 2011), o descriere a rădăcinii într-o teză de arheologie vegetală (Hather, 1988) și câteva studii despre organele de reproducere (De Vos, 1981; Takahashi și Skwarla, 1990; Noher de Halac & Harte, 1995; Sodmergen și colab., 1997; Chapman & Mulcahy, 1997; Abd-El Maksoud, 2012; Enache și colab., 2021), respectiv generarea de calus și embriogeneza (Ghasemnezhad și colab., 2011). Aspecte micromorfologice ale epidermei limbului foliar au fost studiate la planta cultivată în Egipt (Abd-El Maksoud, 2012) și la 4 soiuri de *O. biennis* (Tverskoj, Genoteros, Svetlyachok, Fonarik) de Savchenko și colaboratorii în anul 2021. Lucrarea confirmă aspecte descrise de Popov și colab. (2009) și Cheryatova (2014) la specia din Rusia. În teza sa de arheologie vegetală din anul 1988, Hather oferă o descriere a rădăcinii secundare. O scurtă prezentare a anatomiei limbului foliar este oferită de Cheryatova în anul 2014 (citată de Savchenko și colab., 2021). Aspecte micromorfologice ale limbului foliar au fost studiate și de Savchenko și colaboratorii în anul 2021 la 4 soiuri cultivate de *O. biennis*, în contextul plasticității sale ecologice.

2.4.3.2. Aspecte de ultrastructură

Despre ultrastructura speciei în literatura de specialitate au fost identificate doar studii asupra granulelor de polen (Takahashi și Skvarla, 1990; Noher de Halac și Harte, 1995; Sodmerger și colab., 1997).

2.4.4. Distribuție și habitat

Specia este endemică în America de Nord, arealul ei fiind după Steckel și colaboratorii (2019) din Mexic până în Florida, la nord până spre centrul provinciilor Ontario și Quebec (Canada), la vest până în Dakota de Nord și Oklahoma, dar și de-a lungul coastei Pacificului. Ulterior a fost introdusă de om pe toate celelalte continente, cu excepția Antarcticii (Steckel și colab., 2019), fiind cea mai comună și răspândită specie din subsecțiunea *Oenothera* (Dietrich și colab., 1997). Se presupune că la baza răspândirii în Europa se află două grupe distincte de *Oenothera* spp., cea originară din America de Nord, bienală, adaptată la condițiile continentale, cu temperaturi medii mai scăzute și precipitații lunare moderate, iar

cea din America de Sud, anuală sau perenă, cu preferințe pentru climat oceanic (Dietrich și colab., 1997; Hall și colab., 1988; Steckel și colab., 2019).

În România este o specie alohtonă cu statut necunoscut, pionieră (Săvulescu, 1957; Sârbu și colab., 2013). Preferințele ecologice ale speciei sunt sintetizate în tabelul 2.5. împreună cu valorile indicelui Ellenberg.

Tabel 2.5.

Preferințe ecologice ale speciei *O. biennis* L. (d. Chytrý M. și colab., 2018; Păcurar, 2020)

Specie	Aspect evaluat						Referințe
	Bioforma	Indice de lumină	Ind. de temperatură	Ind. de umiditate	Ind. de reacție	Ind. de troficitate (azot)	
		*VIE - Interpretare	*VIE - Interpretare	*VIE - Interpretare	*VIE - Interpretare	*VIE - Interpretare	
<i>Oenothera biennis</i> L.	H hemicriptofită	9 - extrem-heliofilă	7 - termofilă	4 - mezo-xerofilă	6x - slab-acidofilă-euriacidofilă	4 - Oligomezotrofă (moderat nitrofilă)	Chytrý M. și colab., 2018; Păcurar, 2020

*VIE – valoarea indicelui Ellenberg (1991, 1992) cu interpretare după Chytrý M. și colab., 2018 și Păcurar, 2020

**PARTEA A II-A: CONTRIBUȚII
PERSONALE**

CAPITOLUL 3

MATERIALE ȘI METODE DE LUCRU

3.1. Recoltarea și prelucrarea materialului vegetal

Materialul vegetal este reprezentat de plante integrale din speciile *Tussilago farfara* L., *Geranium robertianum* L., *Oenothera biennis* L. și *Leonurus cardiaca* L., recoltate din flora spontană, din două regiuni diferite din România: Vest – Macea, zonă de câmpie; Nord-Est – Vatra Dornei, zonă de munte. Au fost colectate mai multe exemplare aparținând aceleiași populații din fiecare locație, un specimen din fiecare populație fiind conservat ca voucher (Figura 3.1.), iar restul fiind utilizate pentru prepararea extractelor. Specimenele au fost identificate de Conf. univ. dr. Turcuș Violeta. Numărul de exemplare colectate din fiecare locație a variat în funcție de disponibilitate și de biomasa vegetală. Recoltarea speciilor a fost efectuată cu respectarea legislației în vigoare, a normelor de cercetare în medicina tradițională (Legea nr. 491/2003; Directiva 92/43/CEE; OUG57/2007) și a recomandărilor din literatura de specialitate referitoare la condițiile meteorologice în momentul recoltării - vreme caldă, fără precipitații și stadiul ontogenetic - la maturitate, respectiv în perioada de înflorire (Pirnă și colab., 2012). Având în vedere obiectivele studiului și biologia speciei, *T. farfara* a fost recoltată în perioada vegetativă. Locațiile și perioadele de recoltare sunt redată în Tabelul 3.1. Identificarea speciilor în teren a fost efectuată cu ajutorul tehnicilor promovate de literatura de specialitate, fiind consultate determinatoare botanice (Sârbu și colab., 2013) și herbare (Ardelean și Mohan, 2008 - Flora medicinală a României).

Metodologia de lucru este redată schematic în figura 3.2.



Fig. 3.1. Planșe de herbar cu specimene voucher ale speciilor luate în studiu. A – *Tussilago farfara* L. recoltată din Macea, B – *Tussilago farfara* L. recoltată din Vatra Dornei, C – *Geranium robertianum* L. recoltată din Macea, D – *Geranium robertianum* L. recoltată din Vatra Dornei, E – *Leonurus cardiaca* L. recoltată din Macea, F – *Leonurus cardiaca* L. recoltată din Vatra Dornei, G – *Oenothera biennis* L. recoltată din Macea, H – *Oenothera biennis* L. recoltată din Vatra Dornei.

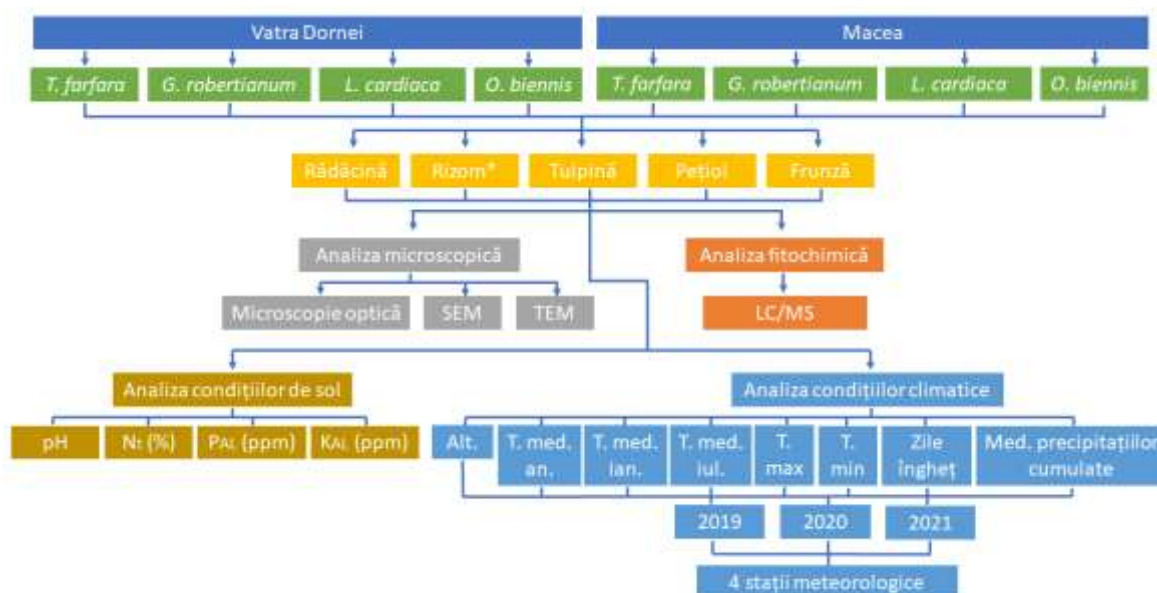


Fig. 3.2. Schema materialelor și metodelor de lucru. SEM – microscopie electronică de baleiaj, TEM – microscopie electronică de transmisie, LC/MS – cromatografie lichidă – spectrometrie de masă, Nt(%) – procentaj de azot total, P_{AL} (ppm) – cantitate de fosfor asimilabil calculat în părți per milion, K_{AL} (ppm) – cantitate de potasiu asimilabil calculat în părți per milion.

3.2. Examinare microscopică a materialului vegetal

3.2.1. Microscopie optică

Analiza structurii interne a principalelor organe vegetative la speciile luate în studiu a fost efectuată conform tehnicilor descrise de Șerbănescu-Jitariu și colaboratorii, în anul 1983. Observarea și fotografierea probelor au fost realizate cu ajutorul microscopului Olympus BX43 cu cameră Olympus XC30, operată de programul CellSens Life Science Imaging Software (Olympus), respectiv cu microscopul Novex Holland cu cameră încorporată, operată de programul BEL Capture Software din dotarea Institutului de Științe ale Vieții „Aurel Ardelean”, Universitatea de Vest „Vasile Goldiș” din Arad.

3.2.2. Microscopie electronică de baleiaj (SEM)

În vederea analizării elementelor de micromorfologie cu ajutorul microscopului electronic cu baleiaj, din probe reprezentate de plante întregi din fiecare specie luată în studiu, conservate în etanol de concentrație 70% au fost secționate fragmente din organele vegetative – rădăcină, rizom, tulpină aeriană, pețiol și limb foliar. Examinarea preparatelor s-a realizat cu ajutorul microscopului electronic de baleiaj Quanta 250 – FEI Company, din dotarea Laboratorului de Microscopie Electronică al Institutului de Științe ale Vieții „Aurel Ardelean”, Universitatea de Vest „Vasile Goldiș” din Arad, în condiții de vacuum, folosind un detector secundar de electroni (Bray, 2000; Talbot și White, 2013).

3.2.3. Microscopie electronică de transmisie (TEM)

În scopul analizării elementelor de ultrastructură a organelor vegetative aparținând speciilor *T. farfara* L., *G. robertianum* L., *L. cardiaca* L. și *O. biennis* L., materialul vegetal a fost prelucrat conform tehnicilor de microscopie electronică de transmisie descrise în literatura de specialitate (Crăciun, 2010; Hayat, 2000).

Utilizând ultramicrotomul LEICA UC7 și cuțite de sticlă, s-au obținut secțiuni semifine cu o grosime cuprinsă între 250-500 nm. Acestea au fost prelevate pe lame de sticlă degresate, colorate cu soluție Epoxy Tissue Stain, apoi vizualizate și fotografiate la microscopul Olympus BX 51.

În final, probele au fost examinate la microscopul electronic de transmisie Jeol JEM 1010, Japonia, din dotarea Laboratorului de Microscopie electronică a Centrului de Microscopie Electronică „C. Crăciun”, Universitatea Babeș-Bolyai, la o accelerare a electronilor de 80kV, fiind captate imagini de diferite ordine de magnificare.

3.3. Analiza compoziției fitochimice a materialului vegetal

3.3.1. Prepararea extractelor vegetale

3.3.1.1. Prepararea extractelor hidroalcoolice

Pentru obținerea extractelor hidroalcoolice, materialul vegetal reprezentat de plante întregi din speciile *G. robertianum* L., *L. cardiaca* L., *O. biennis* L., recoltate în perioada de înflorire, respectiv *T. farfara* L., recoltată în perioada vegetativă. Materialul vegetal uscat și mărunțit a fost extras în etanol 70%, în raport de 1:5 masă/volum, conform Farmacopeei Europene, Ed. IX (2021), respectiv Homöopathische Arzneibuch HAB (2021). Etanolul de concentrație 70% necesar extracției a fost obținut din etanol 96% (Coman Prod, Ilfov, România) și apă purificată (Millipore). Concentrația finală a extractului astfel preparat a fost de 0.2 g plantă uscată/mL extract.

3.3.1.2. Prepararea extractelor apoase (infuzie)

Pentru obținerea extractelor apoase, materialul vegetal reprezentat de plante întregi din cele patru specii luate în studiu a fost uscat timp de 7 zile la umbră, la temperatura camerei. Extracția a fost efectuată în raport de 1:10 plantă uscată și mărunțită în amestec cu apă fierbinte (adusă până la punctul de fierbere), conform Farmacopeei Europene, Ed. X (1993). Concentrația finală a extractului astfel preparat a fost de 0.1 g plantă uscată/mL extract.

3.3.2. Metoda spectrometriei de masă prin cromatografie lichidă (LC/MS)

Analiza LC/MS a extractelor vegetale a fost realizată pe un sistem UHPLC Shimadzu Nexera I LC/MS - 8045 (Kyoto, Japonia), echipat cu o pompă cuaternară și un autosampler, respectiv o sondă ESI și un spectrometru de masă cu tijă cvadrupolară.

Separarea a fost efectuată pe o coloană cu fază inversă Luna C18 (150 mm x 4,6 mm x 3 μm, 100 Å), de la Phenomenex (Torrance, CA, SUA). Faza mobilă (Anexa 1, Tabelul 1 și Graf. 1.) reprezentată de un gradient format din metanol (Merck, Darmstadt, Germania) și apă ultrapurificată preparată cu ajutorul Simplicity Ultra Pure Water Purification System (Merck Millipore, Billerica, MA, SUA). Ca modifier organic s-a folosit acid formic (Merck, Darmstadt, Germania). Metanolul și acidul formic au fost de calitate corespunzătoare metodei LC/MS. Detecția a fost efectuată cu ajutorul unui spectrometru de masă cu tijă cvadrupolară operat cu ionizare prin electrospray (ESI) atât în modul de ionizare MRM (multiple reaction monitoring) negativ, cât și pozitiv (Anexa 1, Tabelul 2).

Etaloanele sunt reprezentate de substanțele din Anexa 1, Tabelul 3. Din fiecare standard, la fiecare concentrație, s-a injectat câte 1 μl. Identificarea s-a realizat prin

compararea spectrelor MS și a tranzițiilor între compuși separați și standarde. Identificarea s-a obținut pe baza tranzițiilor principale și secundare din spectrele MS ale substanțelor iar cuantificarea s-a realizat pe baza tranzițiilor principale. În scopul cuantificării au fost determinate și curbele de calibrare (Anexa 1, Planșele 1-2). În Anexa 1, Tabelul 3 pot fi observate, de asemenea, ecuațiile curbelor de calibrare, factorii de corelație ai acestora, limita de detecție și de cuantificare determinată. În Anexa 1, Tabelul 2 sunt prezentate, de asemenea, timpii de retenție și datele spectrelor MS specifice pentru standardele utilizate, iar în Anexa 1, Planșele 3-37 sunt prezentate cromatogramele și spectrele MS. Tabelele 4-7 din Anexa 1 cuprind timpii de retenție și tranzițiile principale pentru fiecare compus identificat în extractele hidroalcoolice și apoase de la fiecare specie luată în studiu. În cadrul analizelor LC/MS „ND” este definit ca „nedetectat” sau „sub limita de detectare” iar „<QL” este definit ca o componentă care poate fi identificată (la o concentrație mai mare decât limita de detectare), dar care nu poate fi cuantificată într-o limită de eroare rezonabilă.

3.4. Analiza condițiilor pedoclimatice din ariile de recoltare

Factorii analizați au fost selectați conform rezultatelor prezentate în literatura de specialitate, care susțin în baza corelațiilor observate că sunt printre principalii factori de mediu cu impact asupra conținutului de compuși bioactivi la diverse alte specii (Liu și colab., 2016; Neagu și colab., 2019; Chelgoum și colab., 2021).

3.4.1. Analiza condițiilor de sol

Din fiecare locație de recoltare au fost prelevate probe de sol în vederea stabilirii stării de fertilizare a acestuia prin analiza unor parametri de bază: pH, cantitate de azot total (N_t), cantitate de fosfor și potasiu – forme asimilabile (P_{AL} , K_{AL}).

Recoltarea probelor de sol s-a realizat conform recomandărilor din literatura de specialitate (Liebig și colab., 2010).

Indicele de pH al solului a fost determinat prin metoda potențimetrică (Kalra, 1995),

Indicele de azot total (IN) al probelor de sol a fost obținut prin calcul, în funcție de conținutul de humus al solului (H%) și gradul de saturație în baze (V%) folosind următoarea formulă:

$$IN = H\% * V\% / 100$$

Cantitatea de fosfor și de potasiu mobil din probele de sol a fost determinată prin metoda Egner-Rhiem-Domingo (Egner și colab., 1960) și exprimată în părți per milion (ppm).

3.4.2. Analiza condițiilor climatice

3.4.2.1. Altitudine

Datele GPS de la locul recoltării au fost colectate cu ajutor aplicației GPS Finder pentru Android disponibilă la https://play.google.com/store/apps/details?id=com.developers.gps&pcampaignid=web_share. Altitudinea corespunzătoare a fost obținută prin introducerea coordonatelor GPS în sistemul oferit de GPS-Coordinates disponibil la <https://www.gps-coordinates.net/>.

3.4.2.2. Temperatură și precipitații

În scopul evaluării condițiilor climatice din regiunile de recoltare, au fost colectate și analizate date meteorologice preluate din baza de date Meteomanz (<http://www.meteomanz.com/>), de la 4 stații meteorologice apropiate de locațiile de recoltare, pentru anii 2019-2021, astfel încât să fie cuprinsă întreaga perioadă a ciclului ontogenetic al plantelor.

Au fost colectate următoarele date: temperatura medie anuală, temperatura medie din luna ianuarie și din luna iulie, temperaturile maxime și minime, precipitații anuale cumulate. Perioada fără îngheț a fost determinată prin scăderea numărului de zile cu îngheț (disponibile în baza de date) din totalul numărului de zile din an.

Pentru cele două regiuni de recoltare au fost întocmite hărți, prin interpolarea datelor (temperatură medie anuală, precipitații anuale cumulate), de la 4 stații meteorologice din apropierea siturilor de recoltare. Modelarea distribuției spațiale a parametrilor climatici a fost efectuată cu Software-ul QGIS 3.40 "Bratislava", prin metoda de interpolare Inverse Distance Weighting (IDW) (Philip și Watson, 1982; Watson și Philip, 1985).

3.5. Analiză statistică a datelor

Valorile cantitative ale compușilor identificați în extractele hidroalcoolice și apoase reprezintă media aritmetică $\pm$ deviațiile standard a trei măsurători independente ale injecțiilor replicate din același extract, la fiecare plantă/tip de extract. Analiza statistică a fost efectuată cu software-ul Excel din pachetul Microsoft Office.

Analiza parametrilor morfologici ale imaginilor de microscopie electronică de scanning (SEM) au fost efectuate cu ajutorul IS Scandium Image Analysis software. Valorile reprezintă media aritmetică $\pm$ deviațiile standard a cel puțin 3 măsurători.

CAPITOLUL 4

EVALUAREA FACTORILOR DE MEDIU

4.1. Altitudine și habitat

Un aspect tot mai des discutat în literatura de specialitate este influența locației geografice și a condițiilor de biotop asupra morfoanatomiei, compoziției biochimice și activității biologice a plantelor (Liu și colab., 2016; Chelghoum et al, 2021). Unul dintre factorii de mediu considerați importanți în inducerea variabilității este altitudinea, care se află în relație strânsă cu ceilalți factori (Wulf și colab., 1999; Dong și colab., 2011; Zlatev, 2012; Suyal și colab., 2020).

În cercetările de față, cele 4 specii au fost recoltate din două locații diferite din flora spontană a României, fiecare caracterizată de un set de condiții ecologice specifice (conform capitolului 3) (Tabelul 4.1.).

Tabel 4.1.

Altitudine, zonă climatică și de vegetație corespunzătoare locațiilor de recoltare a materialului vegetal analizat

Specie	Coordonate GPS	Locație	Altitudine	Zonă climatică*	Zonă/Etaj de vegetație**
<i>T. farfara</i> L.	Lat. 46.390821 Long. 21.308288	Macea	99 m	Temperat-continentală cu influențe oceanice	Zona silvostepii (50-150 m) – silvostepă nordică: <i>Quercus robur</i> L.
<i>G. robertianum</i> L.	Lat. 46.381613 Long. 21.310076				
<i>L. cardiaca</i> L.	Lat. 46.391422 Long. 21.309233				
<i>O. biennis</i> L.	Lat. 46.388241 Long. 21.302165				
<i>T. farfara</i> L.	Lat. 47.373752 Long. 25.46664	Vatra Dornei	1027 m	Continentală rece cu influențe scandinavo-baltice	Etajul nemoral – Subetajul pădurilor de fag și amestec de fag cu rășinoase (600 -1350 m): <i>Fagus sylvatica</i> L., <i>Abies alba</i> Mill.
<i>G. robertianum</i> L.	Lat. 47.347652 Long. 25.340239		863 m		
<i>L. cardiaca</i> L.	Lat. 47.346267 Long. 25.384017		791 m		
<i>O. biennis</i> L.	Lat. 47.341726 Long. 25.331948		926 m		

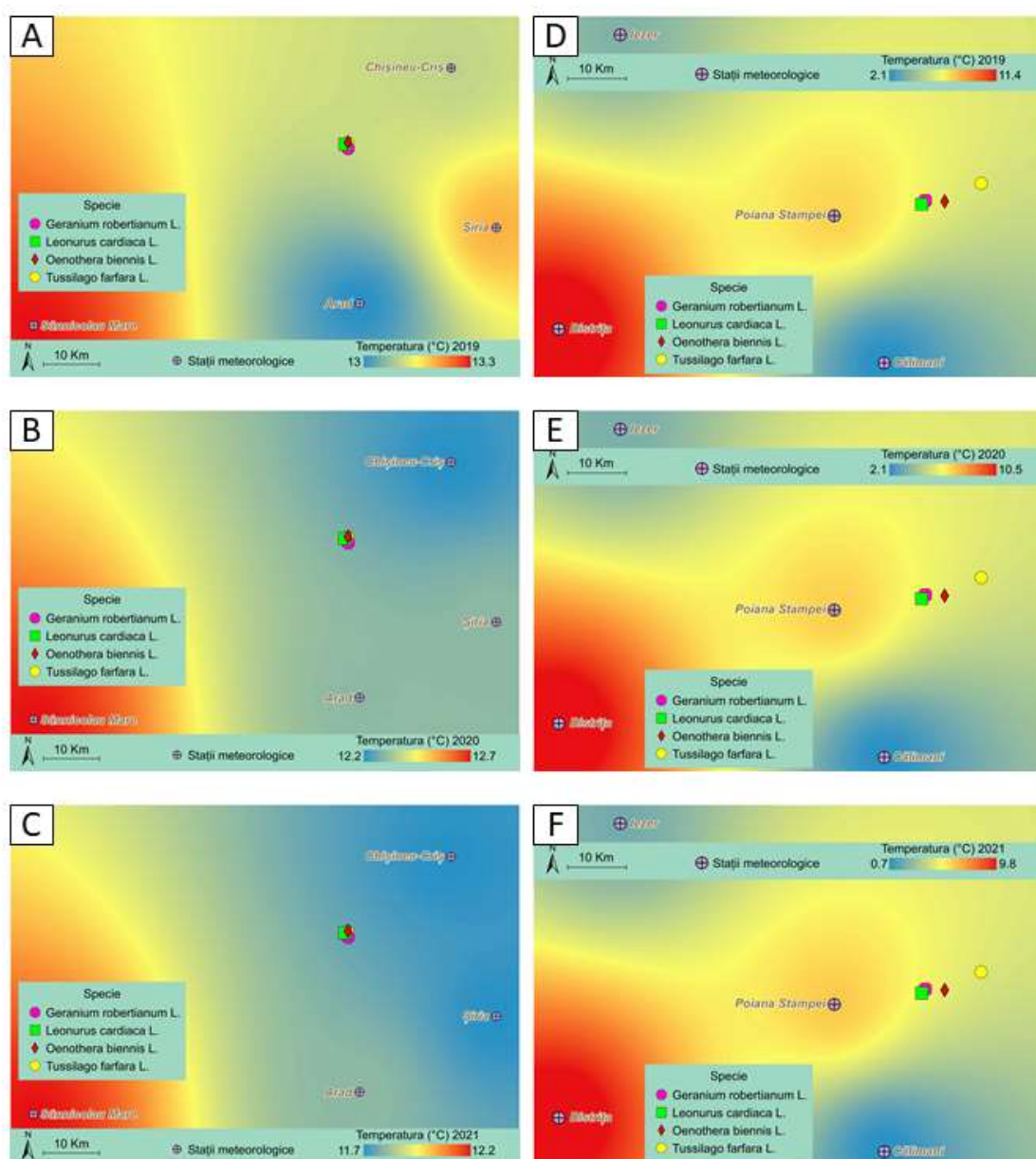
Conform bibliografiei: *Administrația Națională de Meteorologie, Clima României, Ed. Academiei Române, București, 2008; **Pacurar, F. Specii Indicator Pentru Evaluarea și Elaborarea Managementului Sistemelor de Pajiști cu Înaltă Valoare Naturală—HNV; Casa Cărții de Știință, Cluj-Napoca, Romania, 2020; pp. 16–18.

4.2. Condiții climatice

4.2.1. Temperatură medie anuală

În funcție de datele înregistrate de stațiile meteorologice din apropiere, temperatura medie anuală din zona Macea s-a situat între 11,7 – 12,2°C în anul 2021, între 12,2 – 12,7°C în anul 2020 și între 13 – 13,3°C în anul 2019 (Planșa 4.1. A-C).

În zona Vatra Dornei, în anul 2021 temperatura medie anuală s-a situat între 0,7 – 9,8°C, în anul 2020 valorile au fost între 2,1 – 10,5°C, iar în anul 2019 între 2,1 – 11,4°C (Planșa 4.1. D-F).



Planșa 4.1. Hărți ale temperaturilor medii anuale conform interpolării datelor de la 4 stații meteorologice din apropierea locațiilor de recoltare pentru anii 2019-2021. A – Macea 2019, B – Macea 2020, C – Macea 2021, D – Vatra Dornei 2019, E – Vatra Dornei 2020, F – Vatra Dornei 2021.

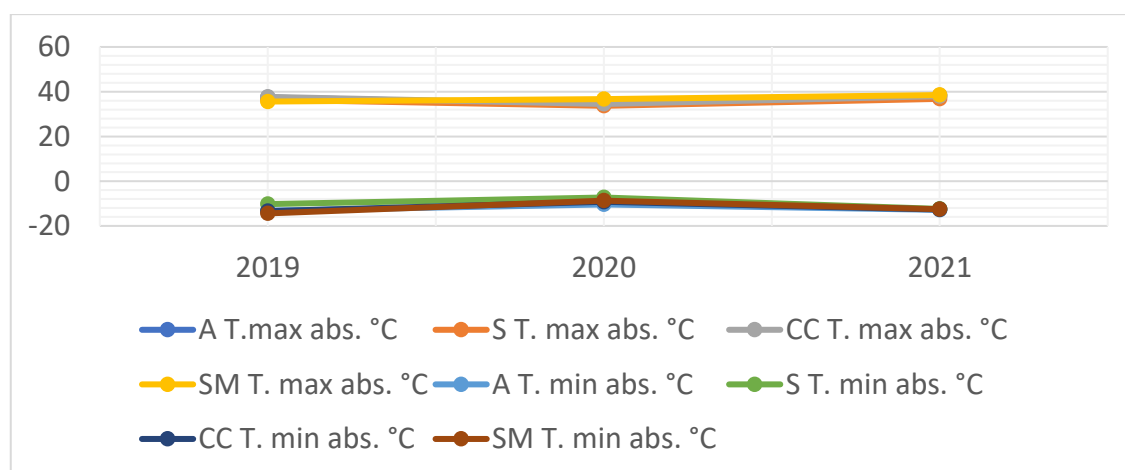
4.2.2. Temperatură medie din luna ianuarie și din luna iulie

În zona Macea, pe perioada ciclului ontogenetic al plantelor, tendința a fost de ierni mai calde, temperatura medie a lunii ianuarie înregistrând creșteri de la un an la altul, având valori pozitive în anul recoltării plantelor (2021, respectiv 2020 pentru *T. farfara* L.). În luna ianuarie a anului 2021 temperatura medie a avut valori cuprinse între 1,1 – 2,2°C. În anul 2020 valorile au fost între -0,9 și -0,4°C, iar în anul 2019 între -1,8 și -0,6°C. Temperatura medie a lunii iulie a avut în anul 2021 valori cuprinse între 24,9 – 25,6°C, în anul 2020 între 21,4 – 22,3°C, iar în anul 2019 între 21,8 – 22,2°C.

În luna ianuarie a anului 2021, temperatura medie în zona Vatra Dornei a fost între -7,7 și 0,2°C, în anul 2020 între -4,4 și -2,8°C, iar în anul 2019 între -9,8 și -1,7°C.

4.2.3. Temperaturi maxime și minime

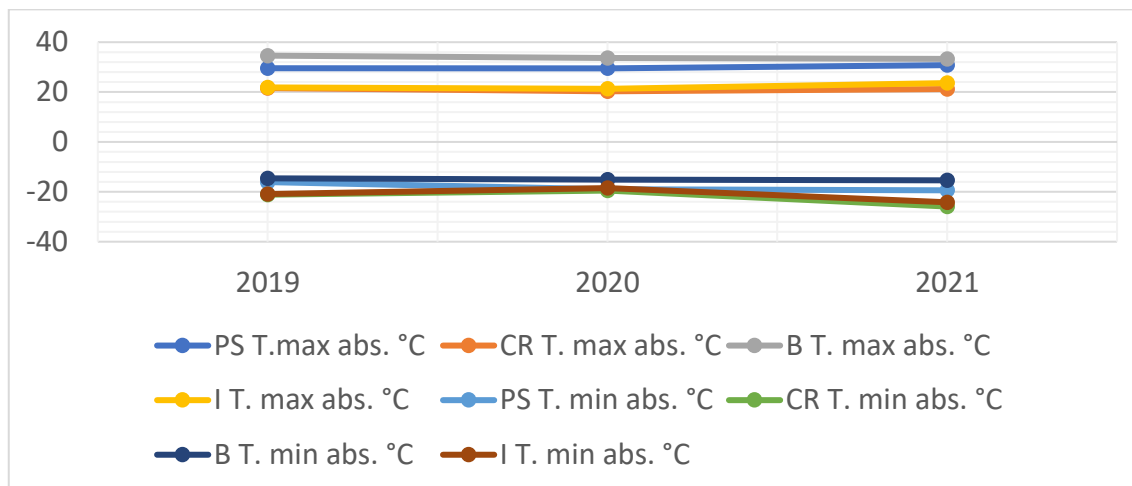
Temperaturile maxime din zona Macea au atins valorile cele mai crescute în anul recoltării plantelor (2021) între 36,8 – 38,5°C. În anul 2020 valorile au fost cele mai scăzute din perioada de analiză, între 33,7 – 36,7°C, iar în anul 2019 valorile atinse au fost de 35,7 – 37,7°C. În aceeași zonă, temperaturile minime din anul 2021 au atins valori de -12,8 și -12,4°C, în anul 2020 de -10,4 și -7,3°C, iar în anul 2019 de -14,4 și -10,2°C (Graf. 4.1.).



Graf. 4.1. Temperaturi maxime absolute și temperaturi minime absolute în zona Macea pe perioada 2019-2021 conform celor 4 stații meteorologice din apropiere. A – Arad, S - Șiria, CC – Chișineu-Criș, SM – Sânicolaul Mare.

Atât temperaturile maxime, cât și cele minime au avut valori mai scăzute în anul recoltării plantelor (2021, respectiv 2020 pentru *T. farfara* L.), comparativ cu perioada de dezvoltare ontogenetică a acestora. În anul 2021 temperaturile maxime atinse în zona Vatra Dornei au fost de 21.2 – 33.3°C, în anul 2020 au atins valori de 20.3 – 33.7°C, iar în anul

2019 valori de 21.6 -34.6°C. Temperaturile minime atinse în zona Vatra Dornei au fost în anul 2021 între -25.9 și -15.4°C, în anul 2020 între -19.5 și -15.1°C, iar în anul 2019 între -21.1 și -14.6°C (Graf. 4.2.).

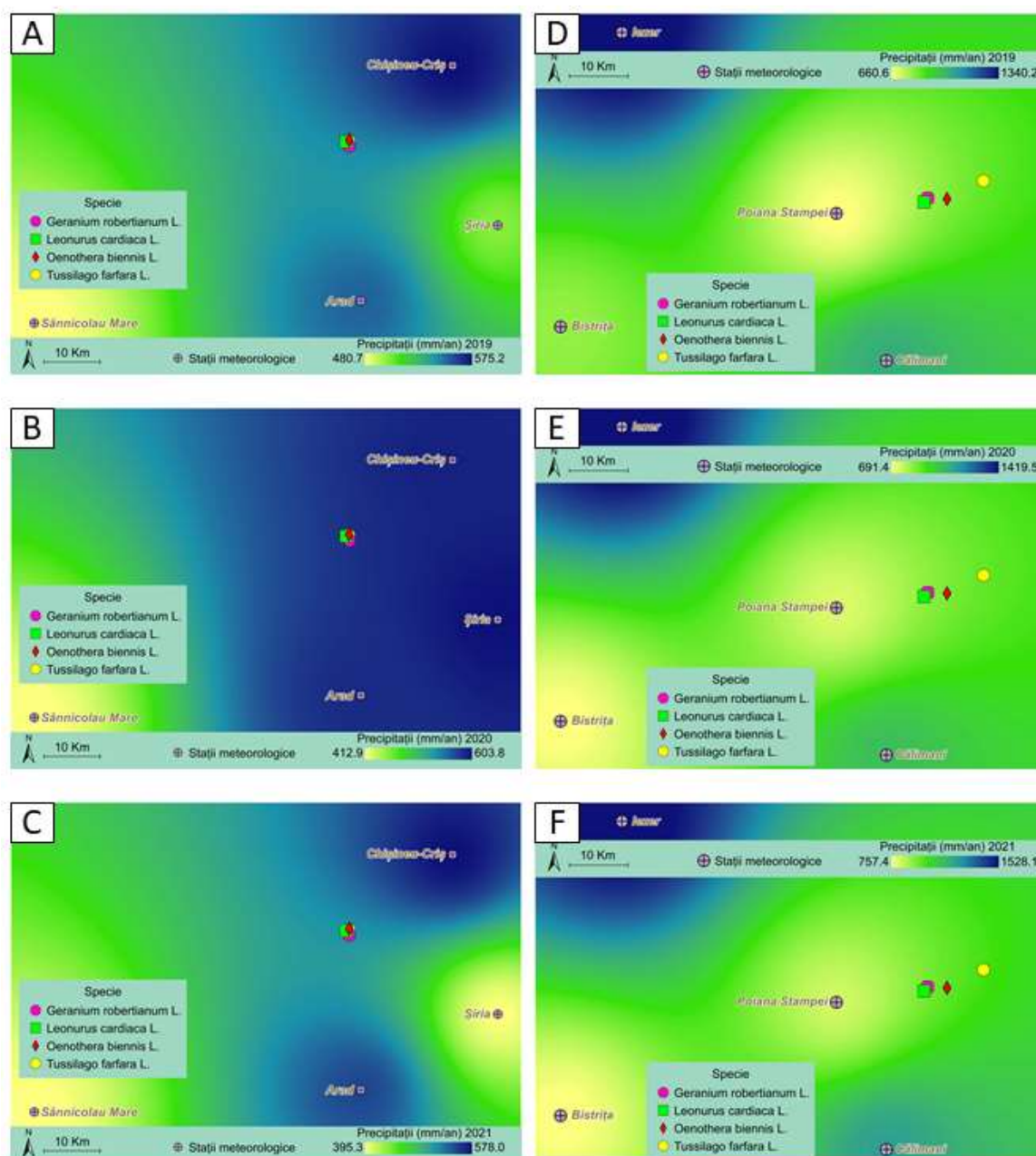


Graf. 4.2. Temperaturi maxime absolute și temperaturi minime absolute în zona Vatra Dornei pe perioada 2019-2021 conform celor 4 stații meteorologice din apropiere. PS – Poiana Stampei, CR – Călimani Reșițiș, B – Bistrița, I - Iezer, grC – grade Celsius.

4.2.4. Precipitații anuale cumulate

În zona Macea, precipitațiile cumulate din anul 2021 au atins valori cuprinse între 395,3 – 578 mm, valorile mai mari fiind cele înregistrate de stațiile cele mai apropiate de localitatea Macea (Planșa 4.2. A-C). În anul 2020, precipitațiile anuale au fost de 412,9 – 603.8 mm, maximul fiind înregistrat de stația din Șiria, iar în anul 2019, valorile au fost de 480,7 – 575,2 mm.

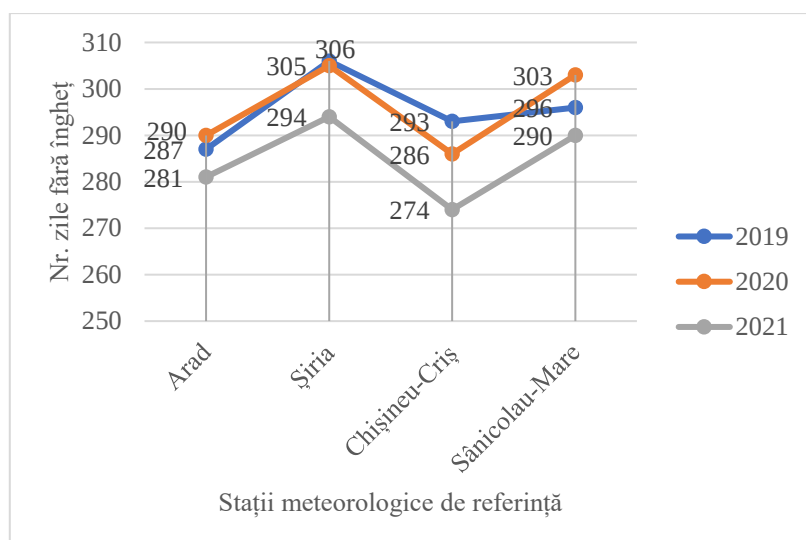
În zona Vatra Dornei, precipitațiile cumulate în anul 2021 au fost cuprinse între 757,4 – 1528,1 mm, în anul 2020 între 691,4 – 1419,5 mm, iar în anul 2019 între 660,6 – 1340,1 (Planșa 4.2. D-F).



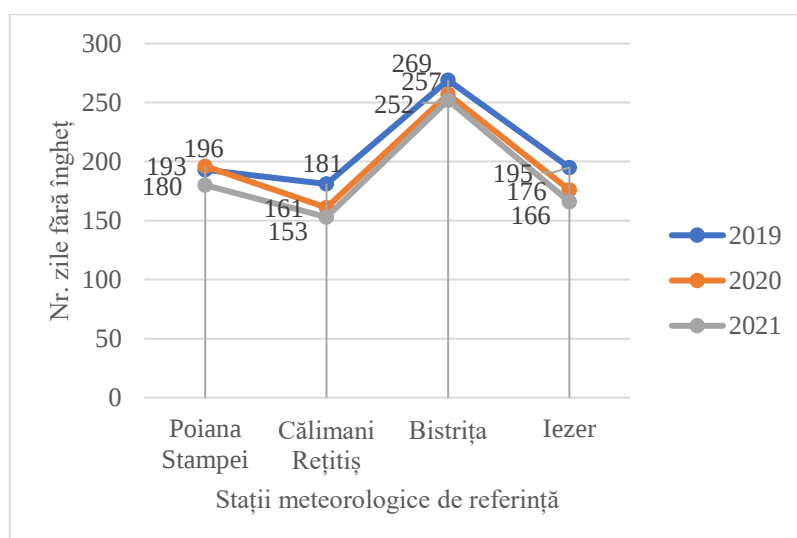
Planșa 4.2. Hărți ale precipitațiilor anuale cumulate conform interpolării datelor de la 4 stații meteorologice din apropierea locațiilor de recoltare pentru anii 2019-2021. A – Macea 2019, B – Macea 2020, C – Macea 2021, D – Vatra Dornei 2019, E – Vatra Dornei 2020, F – Vatra Dornei 2021.

4.2.5. Zile fără îngheț

Numărul de zile fără îngheț la nivelul solului a scăzut pe parcursul anilor analizați, în ambele locații, atingând valoarea minimă în anul de recoltare a materialului vegetal luat în studiu. Fluctuațiile înregistrate în zona de câmpie au fost mai mari decât cele de la munte, în special pentru datele emise de stația Arad (Graf.4.3., Graf. 4.4.).



Graf. 4.3. Număr de zile fără îngheț în zona Măceș pe perioada 2019-2021 conform celor 4 stații meteorologice din apropiere. A – Arad, S - Șiria, CC – Chișineu-Criș, SM – Sânicolaul Mare.



Graf. 4.4. Număr de zile fără îngheț în zona Vatra Dornei pe perioada 2019-2021 conform celor 4 stații meteorologice din apropiere. PS – Poiana Stampei, CR – Călimani Reșitiș, B – Bistrița, I – Iezer.

4.3. Condiții edafice

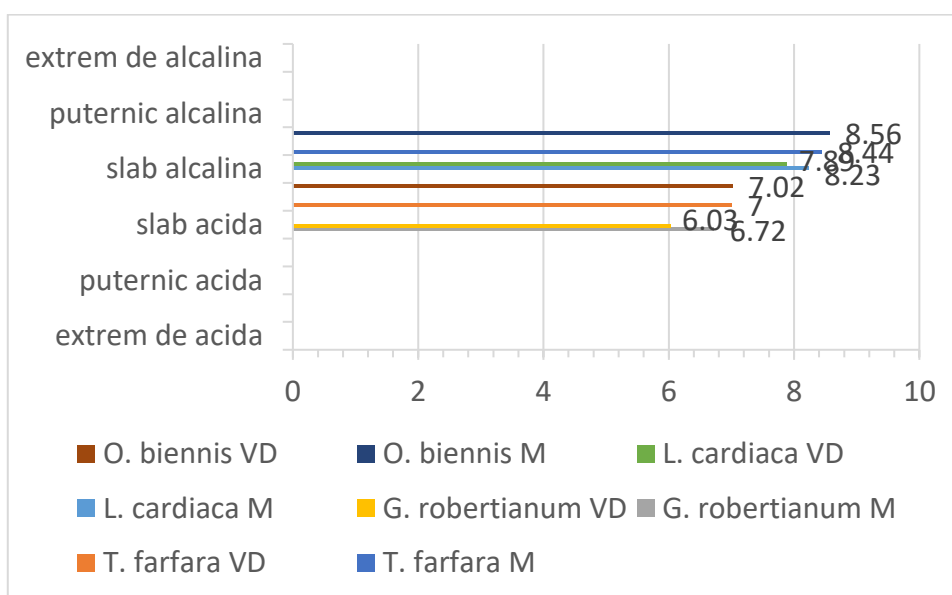
Conform literaturii de specialitate (Liu și colab., 2016; Zhang și colab., 2020), printre principalii factori edafici cu influență asupra compoziției de compuși bioactivi în plantele care vegetează pe un anumit sol se află pH-ul, cantitățile de fosfor și de potasiu în formele lor rapid asimilabile de către plante și aprovizionarea solului în azot. În cadrul prezentelor cercetări, acești parametri au fost analizați pentru fiecare locație de recoltare a plantelor aparținând celor patru specii avute în atenție, rezultatele fiind sintetizate în Tabelul 4.2., respectiv Graficele 4.5.- 4.8.

Tabel 4.2.

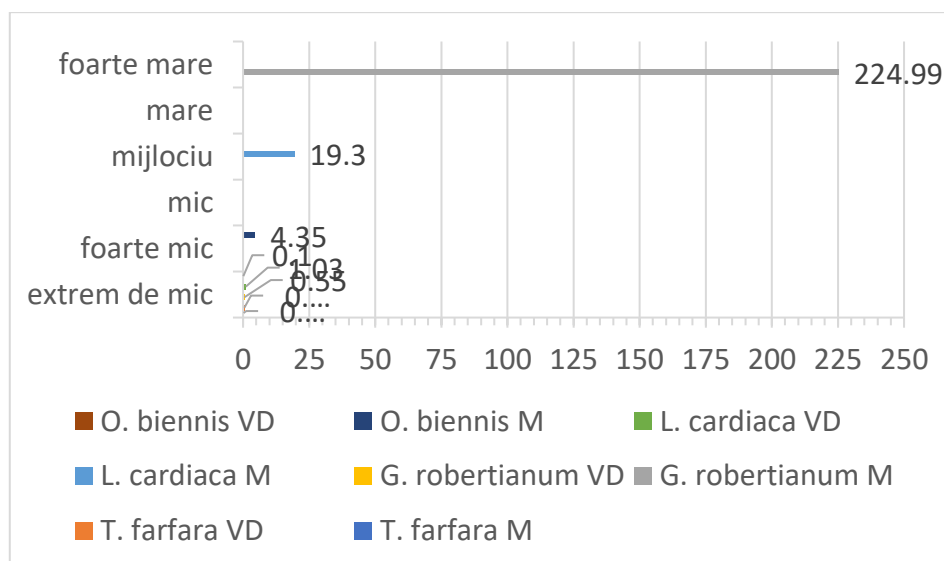
Condiții edafice din locațiile de recoltare a materialului vegetal analizat

Specie	Locație	pH (unit. pH)	P _{AL} (ppm)	K _{AL} (ppm)	N _t (%)
<i>T. farfara</i> L.	Macea	8,44	0,21	663	1,11
<i>G. robertianum</i> L.		6,72	224,99	626	2,56
<i>L. cardiaca</i> L.		8,23	19,30	625	1,86
<i>O. biennis</i> L.		8,56	4,35	280	1,89
<i>T. farfara</i> L.	Vatra Dornei	7,00	0,49	149	0,08
<i>G. robertianum</i> L.		6,03	0,55	148	0,25
<i>L. cardiaca</i> L.		7,89	1,03	109	4,62
<i>O. biennis</i> L.		7,02	0,10	67	4,29

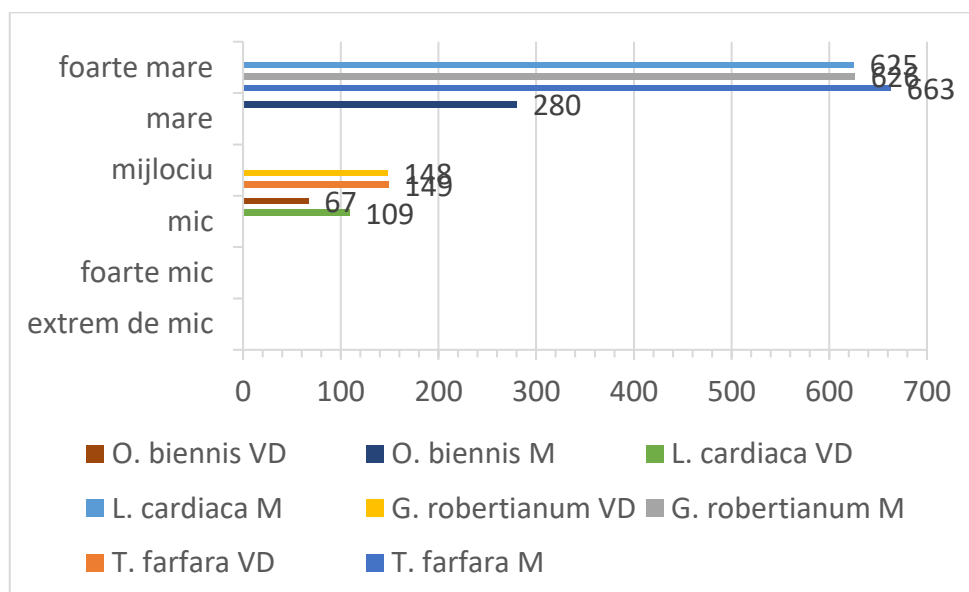
Legendă: unit. pH – unități de pH, P_{AL} (ppm) – cantitate de fosfor asimilabil calculat în părți per milion, K_{AL} (ppm) – cantitate de potasiu asimilabil calculat în părți per milion, N_t – indice de azot total, încadrarea sa în diferite clase reprezentând aprovizionarea solului în azot.



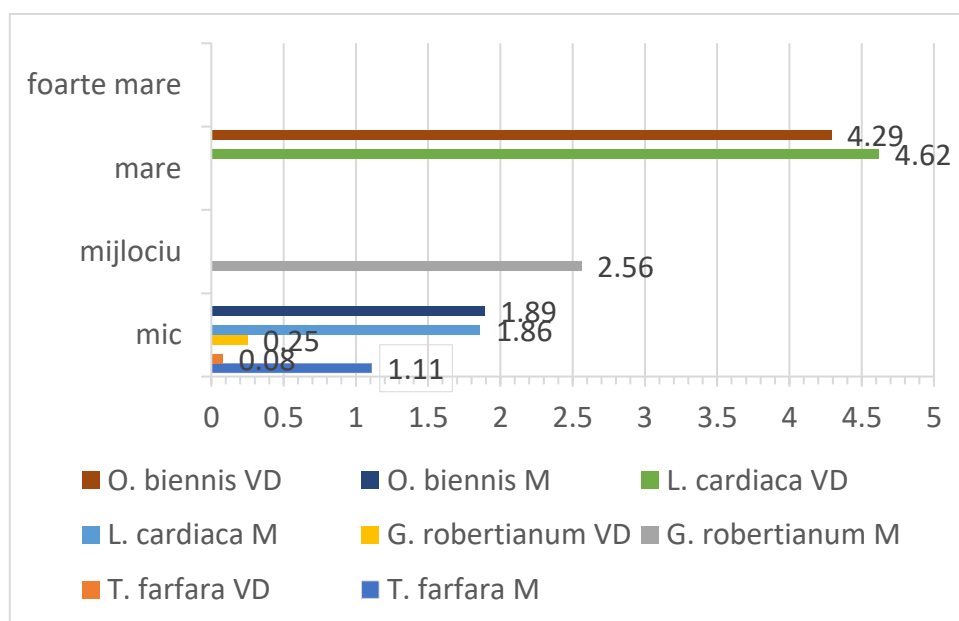
Graf. 4.5. Indice de pH în apă al solului aferent locațiilor de recoltare a materialului vegetal analizat. M – Macea, VD – Vatra Dornei.



Graf. 4.6. Cantitate de fosfor asimilabil (ppm) din solul aferent locațiilor de recoltare a materialului vegetal analizat. M – Macea, VD – Vatra Dornei.



Graf. 4.7. Cantitate de potasiu asimilabil (ppm) din solul aferent locațiilor de recoltare a materialului vegetal analizat. M – Macea, VD – Vatra Dornei.



Graf. 4.8. Indice de azot total din solul aferent locațiilor de recoltare a materialului vegetal analizat. M – Macea, VD – Vatra Dornei.

CAPITOLUL 5

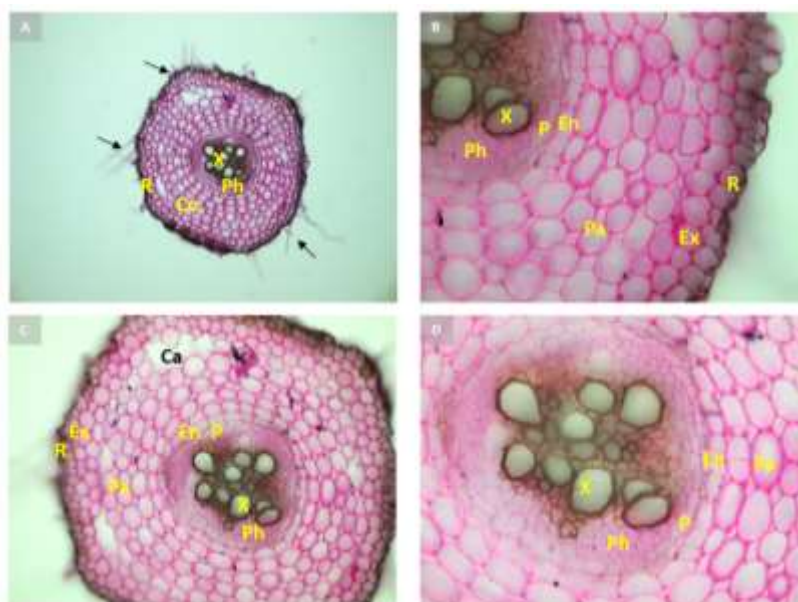
CERCETĂRI MORFO-ANATOMICE ȘI FITOCHIMICE LA SPECIA *TUSSILAGO FARFARA L.*

5.6. Considerații privind caracterele morfo-anatomice și compoziția fitochimică a organelor vegetative la specia *Tussilago farfara L.*

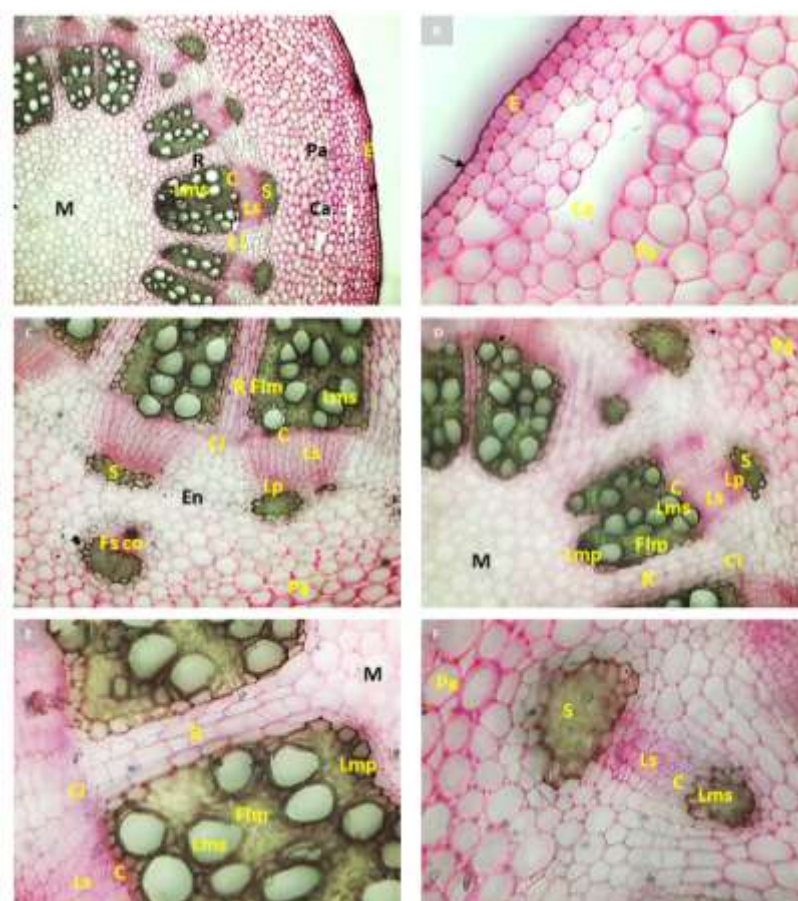
Rezultate de ordin morfo-anatomic obținute la specia *Tussilago farfara L.*:

– Prin analiza structurală efectuată cu ajutorul microscopiei optice s-a obținut o primă descriere anatomică a rădăcinii adventive ce surprinde elemente de identificare a speciei (Planșa 5.1.); se confirmă unele aspecte structurale și se completează literatura de specialitate cu o descriere detaliată a anatomiei rizomului; sunt prezentate elemente care pot fi corelate cu condițiile climatice de vegetație a plantelor din locația de recoltare, precum prezența numeroaselor aerenchimuri de dimensiuni mici în parenchimul cortical în condiții de umiditate scăzută* (Planșa 5.2.); se realizează o descriere detaliată a anatomiei pețiolului, ce include identificarea unor peri glandulari cu suport scurt și alungit, care susține o celulă glandulară bombată și aspecte de variabilitate a perilor, hipodermei și fasciculelor conducătoare în contrast cu cele menționate în literatura de specialitate (Planșa 5.3.); se prezintă o descriere detaliată a secțiunilor transversale prin limbul foliar ce cuprind elemente de identificare a speciei, aspecte de variabilitate a camerelor aerifere și a celulelor din mezofil în contextul factorilor de mediu (umiditate ridicată, hipoxie, grad de iluminare), confirmă aspectul epidermei și prezența a două tipuri de peri – tectori, pluricelulari, uniseriați cu celula terminală lungă și flagelată, respectiv peri secretori cu suport bicelular și glandă bombată (Planșa 5.4.);

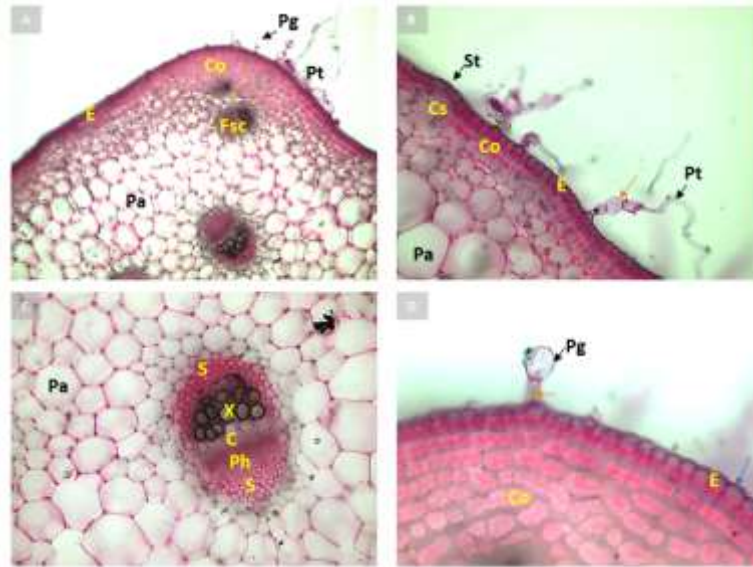
* Bota, V. B., Neamtu, A.-A., Olah, N.-K., Chișe, E., Burtescu, R. F., Pripon Furtuna, F. R., Nicula, A.-S., Neamtu, C., Maghiar, A.-M., Ivănescu, L.-C., Zamfirache, M.-M., Mathe, E., Turcuș, V., 2022 - A Comparative Analysis of the Anatomy, Phenolic Profile, and Antioxidant Capacity of *Tussilago farfara L.* Vegetative Organs. Plants, 11(13), 1663.



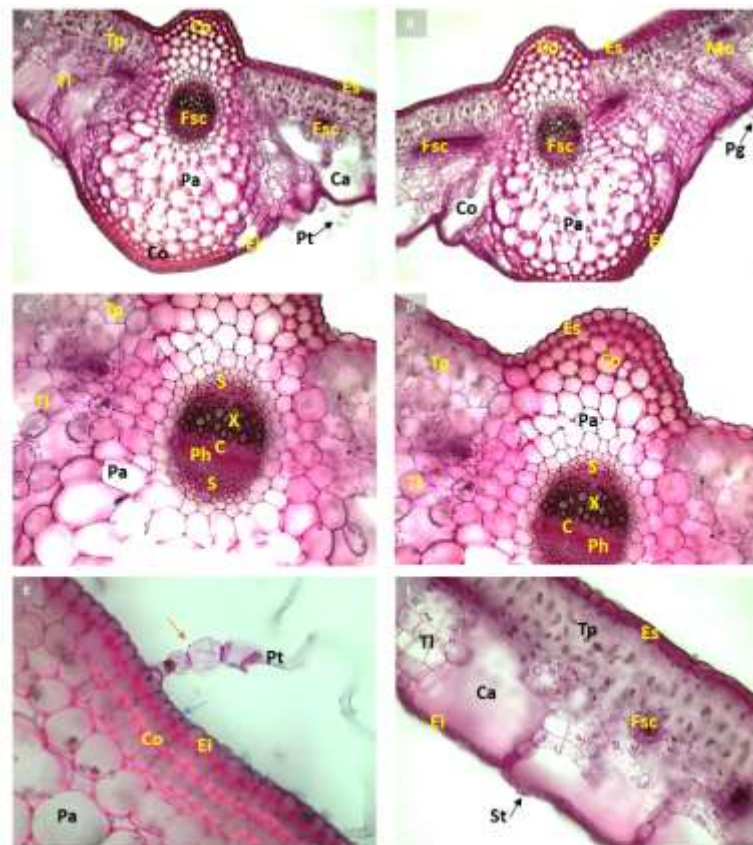
Planșa 5.1. A-D Secțiune transversală prin rădăcina adventivă la *Tussilago farfara* L. R – rizodermă, Co – cortex, Ph – floem, X – xilem, Ex – exodermă, Pa – parenchim cortical, En – endodermă, P – periciclul, Ca – cameră aeriferă, săgeată neagră – perișori absorbantți.



Planșa 5.2. A-F Secțiune transversală prin rizomul de *Tussilago farfara* L.; B – detaliu al epidermei, parenchimului cortical și camerelor aerifere, C-E – detalii din cilindrul central, F – detaliu al unui fascicul conductor cortical. E – epidermă, Pa – parenchim cortical, Ca – cameră aeriferă, S – sclerenchim, Ls – liber secundar, C – cambiu intrafascicular, Ci – cambiu interfascicular, Lms – lemn secundar, R – rază medulară, M – măduvă, Lp – liber primar, Lmp – lemn primar, Flm – fibre lemnoase (libriform), săgeată neagră – cuticulă.

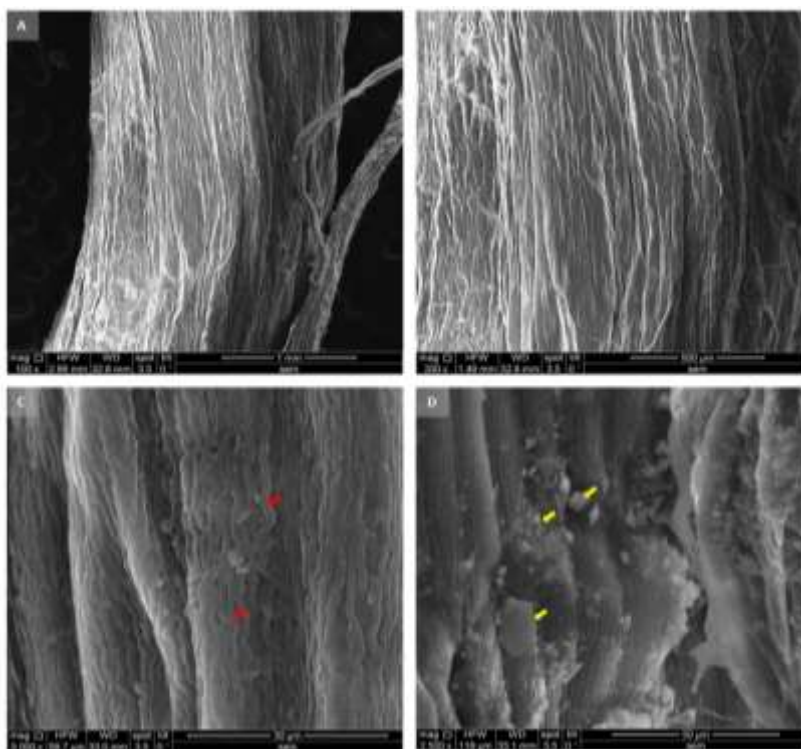


Planșa 5.3. A-D Secțiune transversală prin petiol la *Tussilago farfara* L. E – epidermă, Co – colenchim, Fsc – fascicul conducător libero-lemnos, Pa – parenchim fundamental, Pg – păr glandular, Pt – păr tector, S – sclerenchim, X – xilem, C – cambiu, Ph – floem, săgeată portocalie – celule suport, săgeată albastră – cuticulă.

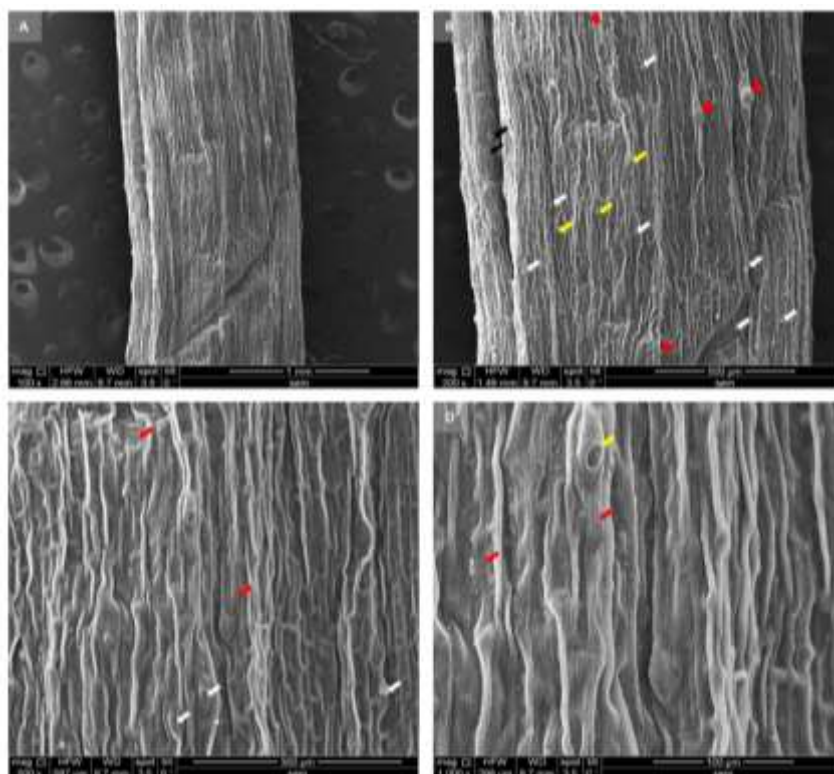


Planșa 5.4. A-F Secțiune transversală prin limbul foliar de *Tussilago farfara* L.; A-B – aspecte de ansamblu ale nervurii mediane; C-D – detalii ale nervurii mediane și fasciculului conducător; E – detaliu păr tector; F – aspect de ansamblu al mezofilului. Es – epidermă superioară, Ei – epidermă inferioară, Co – colenchim, Fsc – fascicul conducător libero-lemnos, Pa – parenchim fundamental, Ca – cameră aeriferă, Tp – țesut palisadic, Tl – țesut lacunos, Pt – păr tector, Pg – păr glandular, St – stomată, săgeată portocalie – celule suport, săgeată albastră – cuticulă.

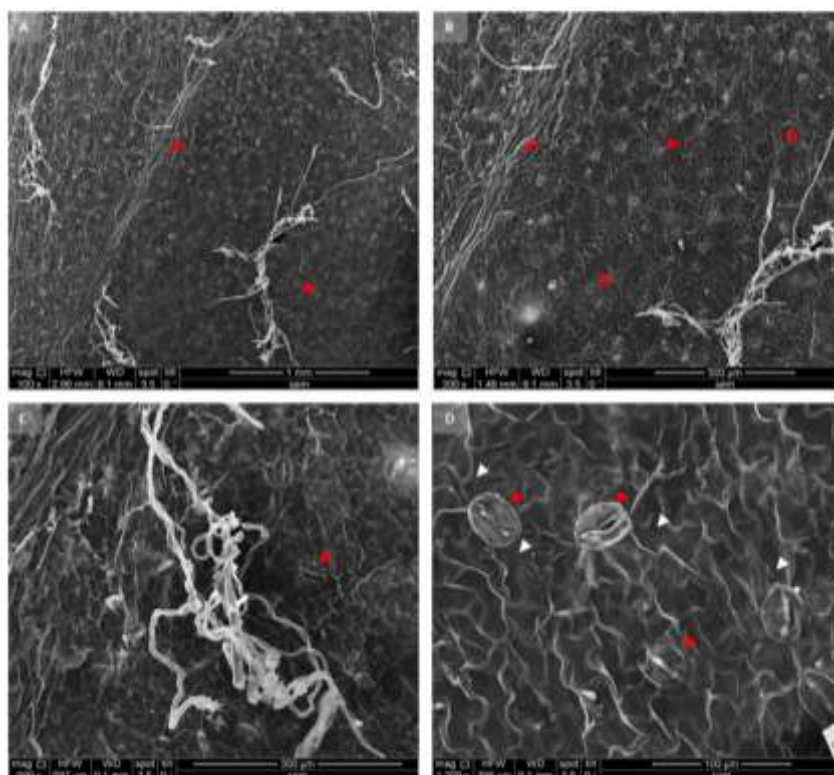
– În baza imaginilor de microscopie electronică de baleiaj (SEM) a fost obținută o primă descriere a micromorfologiei rizomului, pețiolului și limbului foliar la această specie. Acestea relevă striaii longitudinale fine și particule cristaline în mici depresiuni de la suprafața rizomului (Planșa 5.5.); confirmă cele două tipuri de peri tectori și secretori și indică dimensiuni ale stomatelor cuprinse între $48,92 \pm 6,25 \mu\text{m}$ lungime și $27,44 \pm 4,65 \mu\text{m}$ lățime la nivelul pețiolului (Planșa 5.6.); confirmă caracterul amfistomatic al limbului foliar, cu stomate de tip anomocitic, cele de pe fața abaxială mai numeroase, cu lungime mai mică ($L = 40,94 \pm 3,54 \mu\text{m}$) și lățime mai mare ($l = 31,34 \pm 2,80 \mu\text{m}$), comparativ cu fața adaxială ($L = 43,08 \pm 4,23 \mu\text{m}$, $l = 28,87 \pm 2,88 \mu\text{m}$), cu 6 celule anexe dintre care una mai mică decât celelalte, cu pereți laterali ondulați asemeni celulelor epidermice (Planșele 5.7.-5.8.);



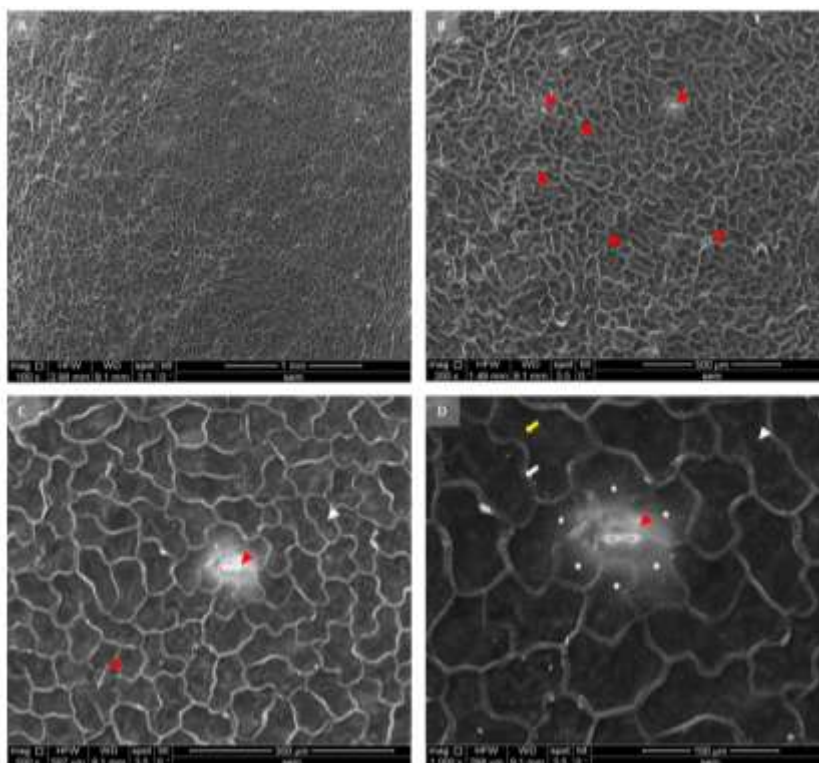
Planșa 5.5. A-B – Microtopografia de suprafață a rizomului la *Tussilago farfara* L.; C – aspectul crenelat al cuticulei; D – prezența cristalelor și a unor particule fine la suprafața epidermei. Săgeată roșie – cuticulă crenelată, săgeată galbenă – cristale.



Planșa 5.6. A-D – Microtopografia de suprafață a pețiolului de *Tussilago farfara* L. Cap de săgeată roșie – stomată, săgeată neagră – păr secretor, săgeată galbenă – bază păr rupt, săgeată albă – excrescență, săgeată roșie – striții cuticulare.

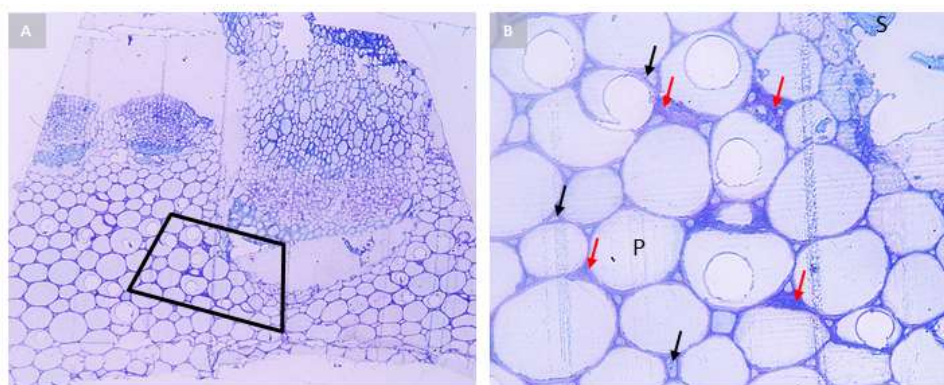


Planșa 5.7. A-D – Aspecte micromorfologice ale epidermei inferioare ale limbului foliar la *Tussilago farfara* L. Cap de săgeată roșie – stomată, săgeată roșie – vena mediană, cap de săgeată albă – celule anexe, săgeată neagră – hife miceliene, săgeată albă – păr tector.

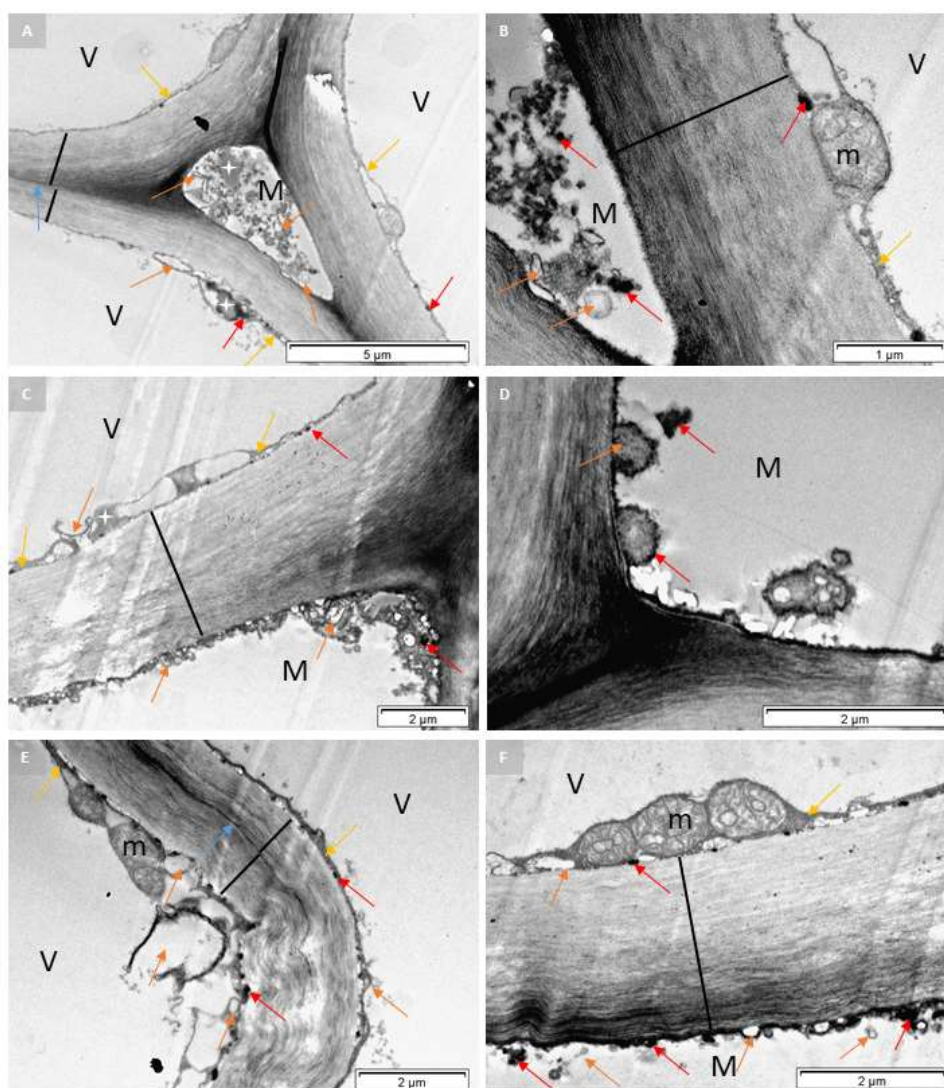


Planșa 5.8. A-D – Aspecte micromorfologice ale epidermei superioare ale limbului foliar la *Tussilago farfara* L. Cap de săgeată roșie – stomată, cap de săgeată albă – celulă epidermică, săgeată galbenă – striatii cuticulare, săgeată albă – contur al peretelui celular extern, stelută albă – celulă anexă.

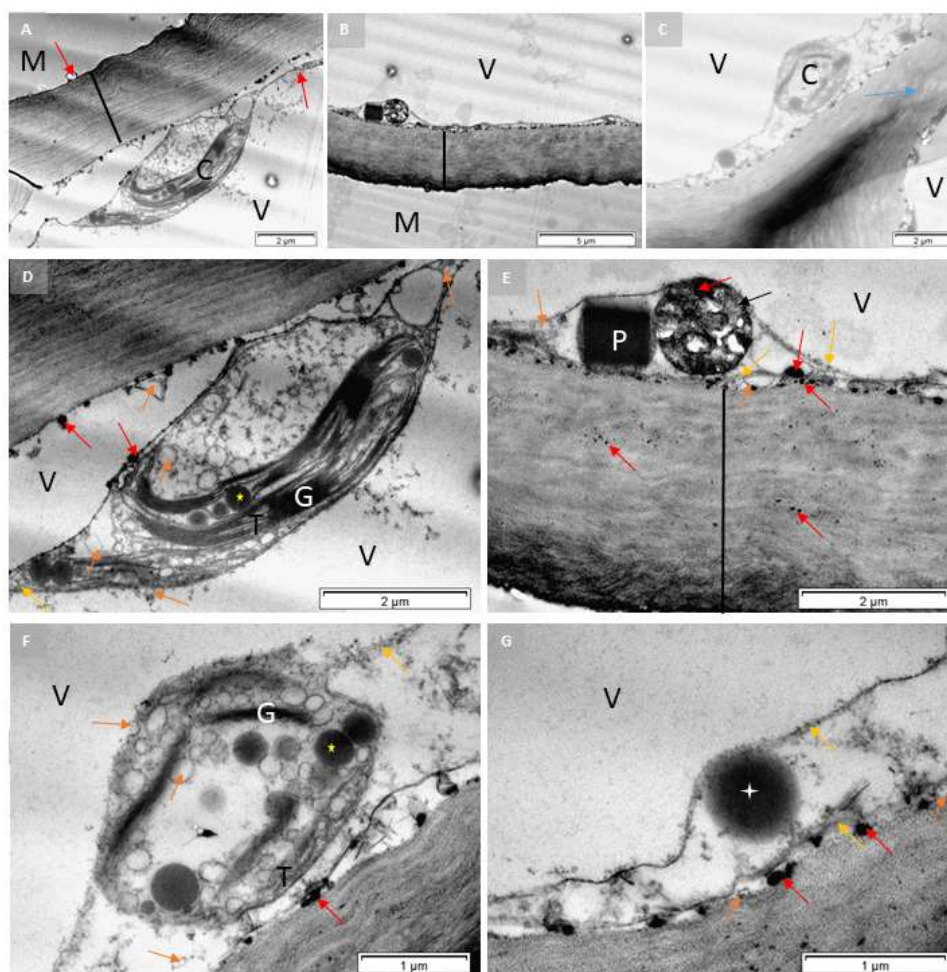
– În urma analizei imaginilor de microscopie electronică de transmisie (TEM) s-a obținut o primă descriere din literatura de specialitate a ultrastructurii rizomului, pețiolului și limbului foliar la această specie. Analiza ultrastructurală a rizomului indică o acumulare de metaboliți primari și secundari în spațiul intercelular de la nivelul parenchimului cortical din apropierea fasciculelor conducătoare (Planșele 5.9., 5.11., 5.13.); analiza ultrastructurală a pețiolului prezintă aspecte ale fasciculului conducător libero-lemnos și indică prezența unor metaboliți secundari la nivelul parenchimului liberian și al celulelor anexe (Planșele 5.14.-5.16.); analiza ultrastructurală a mezofilului limbului foliar a permis caracterizarea celulelor palisadice și lacunare, a spațiilor aerifere, identificarea în premieră la această specie a stromulelor la cloroplaste din celule palisadice și prezența unor metaboliți secundari sub forma unor depozite electron-dense și formațiuni aciculare în celulele palisadice (Planșele 5.17., 5.19., 5.20.).



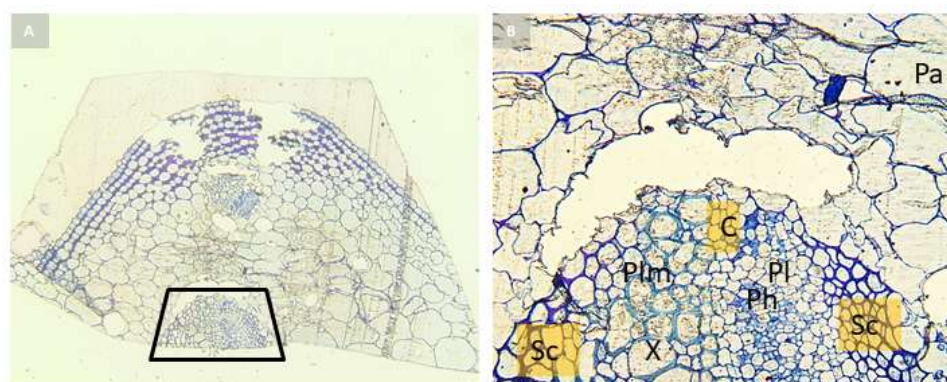
Planșa 5.9. A – Secțiune transversală semifină prin rizomul de *Tussilago farfara* L. cu zona de analiză pentru TEM (în trapez), 10X; B – detaliu parenchim cortical cu depozite extracelulare, 40X. P – parenchim cortical, săgeată neagră – meat, săgeată roșie – depozit.



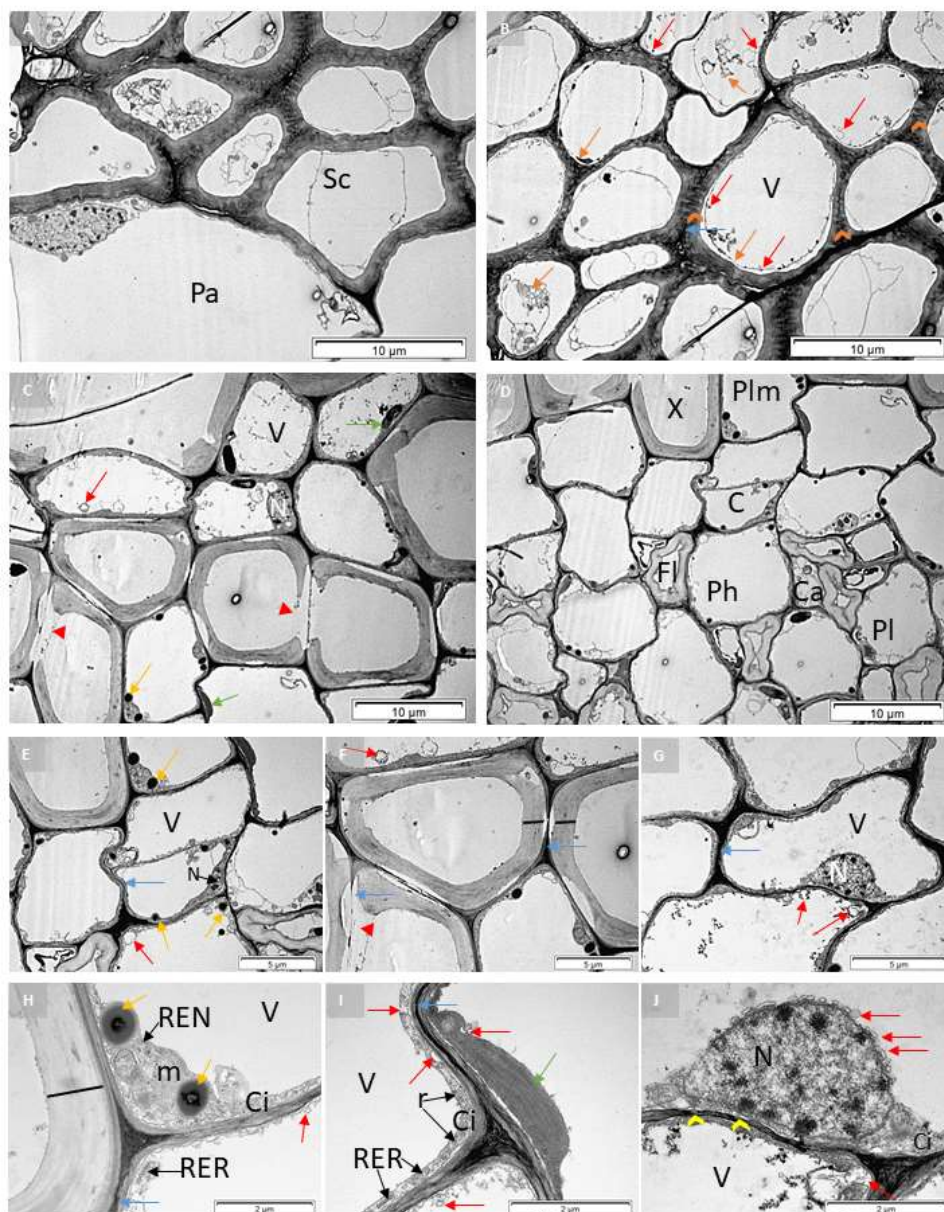
Planșa 5.11. A-F – Aspecte din ultrastructura parenchimului cortical al rizomului de *Tussilago farfara* L. cu depozite la nivelul meatului și în celule corticale; B – detaliu din figura A. V – vacuolă, M – meat, m – mitocondrie, bară neagră – perete celular, săgeată albastră – lamela mediană, săgeată galbenă – filament citoplasmatic, săgeată portocalie – vezicule, săgeată roșie – depozite electron-dense granulare, stelută albă – picătură lipidică.



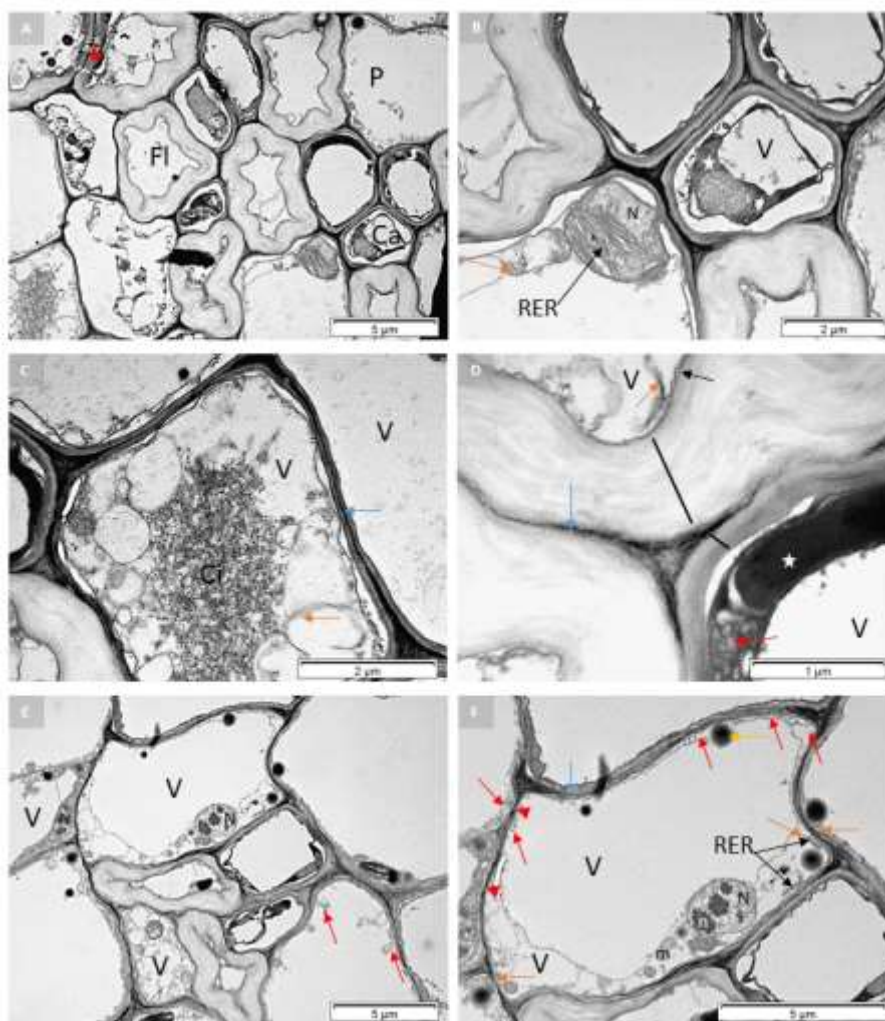
Planșa 5.13. A-C – Aspecte din ultrastructura parenchimului cortical la *Tussilago farfara* L.; D – detaliu din figura A; E – detaliu din figura B; F-G – detalii din figura C. M – meat, V – vacuolă, C – cloroplast, T – tilacoide, G – grana, P – peroxizom, bară neagră – perete celular, săgeată albastră – lamela mediană, săgeată galbenă – filament citoplasmatic, săgeată portocalie – vezicule, săgeată roșie – depozite electron-dense granulare, săgeată neagră – corp multivezicular, steluță albă – picătură lipidică, steluță galbenă – plastoglobul.



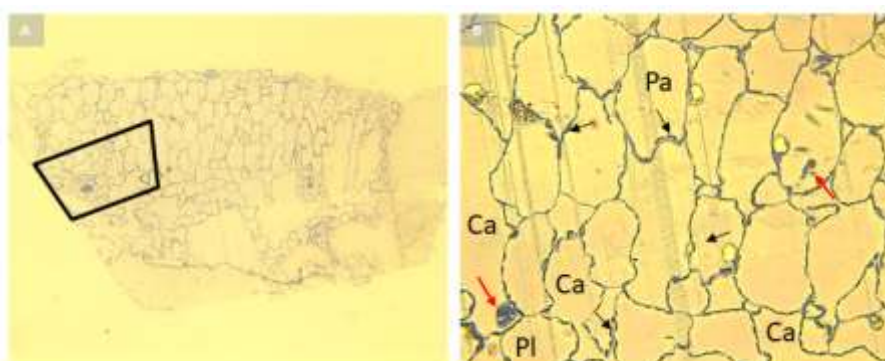
Planșa 5.14. A – Secțiune transversală semifină prin pețiol la *Tussilago farfara* L., cu zona de analiză pentru TEM (în trapez), 10X; B – detaliu sector de parenchim fundamental și de fascicul conductor, 40X. Pa – parenchim fundamental, Sc – sclerenchim, Pl – parenchim liberian, Ph – floem, C – cambiu, Plm – parenchim lemnos, X – xilem.



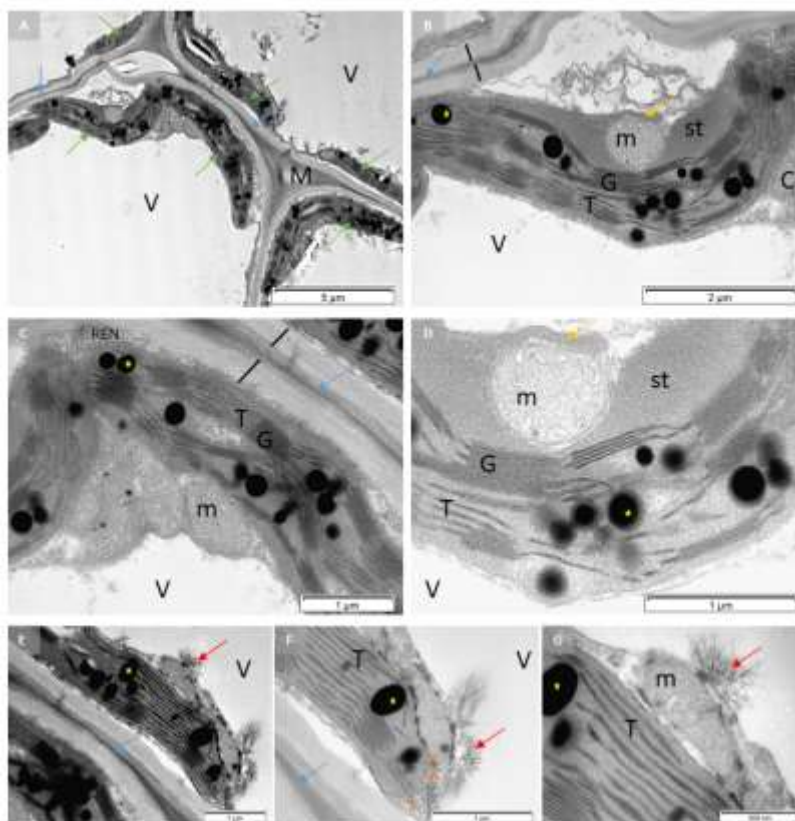
Planșa 5.15. A – Sector de parenchim fundamental și sclerenchim perilemnos la pețiolul de *Tussilago farfara* L.; B – sector de sclerenchim; C – sector de țesut lemnos; D – sector de cambiu, lemn și liber secundar; E, H, I – detalii din ultrastructura cambiumului și parenchimului lemnos (figura D); F – detaliu din ultrastructura xilemului (figura C), G, J – detaliu din ultrastructura cambiumului. Pa – parenchim fundamental, Sc – sclerenchim, Plm – parenchim lemnos, X – xilem, C – cambiu, Fl – fibră liberiană, Ph – floem, Ca – celulă anexă, Pl – parenchim liberian, V – vacuolă, N – nucleu, Ci – citoplasmă, m – mitocondrie, REN – reticul endoplasmatic neted, RER – reticul endoplasmatic rugos, r – ribozomi, săgeată albastră – lamela mediană, săgeată roșie – vezicule, săgeată galbenă – picături lipidice, săgeată potocalie – filamente citoplasmice, săgeată verde – cloroplast, săgeată chevron portocalie – îmbinări de tip Z ale pereților celulari, săgeată chevron galbenă – prelungiri citoplasmice în spațiu apoplastic, cap de săgeată roșie – punctuațiuni mărginite, bară neagră – perete celular.



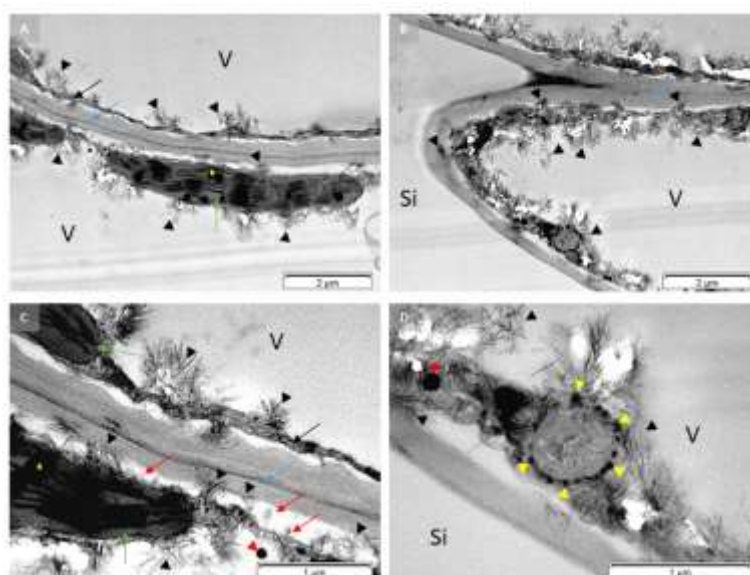
Planșa 5.16. A-D – Aspecte din ultrastructura liberului secundar la pețiolul de *Tussilago farfara* L.; E-F – Aspecte din ultrastructura cambiului; B-D reprezintă detalii mărite din figura A. P – parenchim liberian, Fl – fibră liberiană, Ca – celulă anexă, V – vacuolă, N – nucleu, n – nucleol, RER – reticul endoplasmatic rugos, Ci – citoplasmă, m – mitocondrie, săgeată albastră – lamela mediană, săgeată roșie – vezicule, săgeată portocalie – filamente de citoplasmă, săgeată neagră – plasmalemă, cap de săgeată roșie – plasmodesme, bară neagră – perete celular, steluță albă – depozit electron-dens.



Planșa 5.17. A – Secțiune transversală semifină prin limbul foliar la *Tussilago farfara* L., cu zona de analiză pentru TEM (în trapez), 10X; B – detaliu zonă de tranziție de la țesut lacunar la țesut palisadic, 40X. Pa – țesut palisadic, Pl – țesut lacunar, Ca – cameră aeriferă, săgeată neagră – cloroplaste, săgeată roșie – depozit.



Planșa 5.19. A– Aspecte din ultrastructura celulelor din țesutul palisadic al limbului foliar la *Tussilago farfara* L.; B-C, E-G – detalii din figura A; D – detaliu din figura B. V – vacuolă, M – meat, m – mitocondrie, st – stroma, G – grana, T – tilacoide, C – citoplasmă, REN – reticul endoplasmatic neted, săgeată verde – cloroplast, săgeată albastră – lamela mediană, săgeată galbenă – stromulă, săgeată roșie – formațiuni aciculare, bară neagră – perete celular, steluță galbenă – plastoglobuli, săgeată chevron portocalie – contact direct între membrana cloroplastului și formațiunile aciculare.



Planșa 5.20. A-D – Detalii din ultrastructura unor celule de mezofil la *Tussilago farfara* L. cu depozite aciculare. V – vacuolă, Si – spațiu intercelular, săgeată albastră – lamela mediană, săgeată neagră – filament de citoplasmă, săgeată verde – cloroplast, săgeată roșie – vezicule de transport, cap de săgeată neagră – formațiuni aciculare, cap de săgeată roșie – formațiune electron-densă intracitoplasmatică, cap de săgeată galbenă – formațiuni electron-dense la exteriorul membranei mitocondriale.

Rezultate obținute în urma analizei fitochimice a extractelor obținute din plante de *Tussilago farfara* L. aparținând celor două populații recoltate din flora spontană a celor două zone geografice din România (zona de câmpie – Macea, zona de munte – Vatra Dornei):

Analiza LC/MS a extractelor din herba de *T. farfara* L. a relevat în contextul factorilor pedoclimatici din Macea, 5 polifenoli în extractul hidroalcoolic (Tabel 5.1.) și 8 în infuzie (Tabel 5.2.), iar în condițiile pedoclimatice din Vatra Dornei, 10 polifenoli în extractul hidroalcoolic și 8 în infuzie. Conform literaturii de specialitate consultate, s-a identificat pentru prima dată în această specie acidul salicilic și carnosolul, în herba prezența miricetinei, naringeninei și acidului carnosic, a luteolinei în extractul apos, iar acidul trans-*p*-cumaric a fost cuantificat pentru prima dată în cantități de 43.5 ± 0.3 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată (THVD) și 8700 ± 130 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată (TAVD) în extractele obținute din indivizi recoltați din Vatra Dornei*. Au fost observați mai puțini polifenoli, dar în cantități mai mari, în extractul hidroalcoolic din plante recoltate din condiții pedoclimatice de la câmpie și mai mulți polifenoli, dar în cantități mai mici, în același tip de extract din plante recoltate de la munte. În infuzii a fost o cantitate mai mare de acid cafeic, apigenină, crisină, naringenină, rutozidă și hiperozidă în extractul din herba de *T. farfara* recoltată de la câmpie, dar cantități mai mari de acid trans-*p*-cumaric, acid clorogenic, acid salicilic, luteolină și acid galic în extractul din herba de *T. farfara* recoltată de la munte (Graf. 5.1., 5.2.).

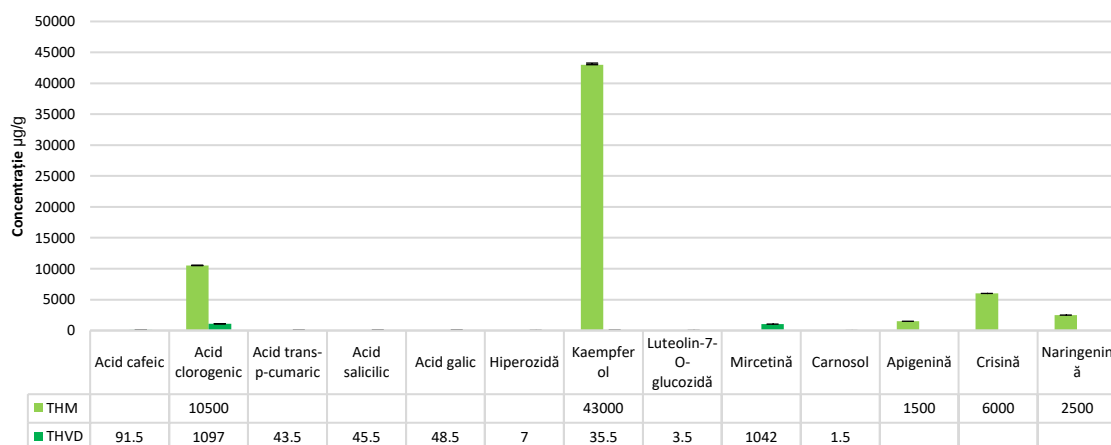
Tabel 5.1.

Evaluarea calitativă și cantitativă a polifenolilor din extracte hidroalcoolice de *Tussilago farfara* L. prin LC/MS

Nr. crt.	Compuși	Proba THM [$\mu\text{g/g}$ plantă uscată]	Proba THVD [$\mu\text{g/g}$ plantă uscată]
1	Acid cafeic	<QL	91.5 ± 0.8
2	Acid clorogenic	10500 ± 70	1097.0 ± 7.9
3	Acid trans- <i>p</i> -cumaric	<QL	43.5 ± 0.3
4	Acid galic	<QL	48.5 ± 0.4
5	Acid salicilic	<QL	45.5 ± 0.4
6	Luteolină	<QL	<QL
7	Luteolin-7-O-glucozidă	<QL	3.5 ± 0.1
8	Hiperozidă	<QL	7.0 ± 0.1
9	Rutozidă	<QL	<QL
10	Kaempferol	43000 ± 270	35.5 ± 0.2
11	Miricetină	<QL	1042.0 ± 8.8
12	Apigenină	1500 ± 10	<QL
13	Crisină	6000 ± 40	<QL
14	Naringenină	2500 ± 10	<QL
15	Carnosol	<QL	1.5 ± 0.1

Abrevieri: Proba THM = extract hidroalcoolic, locul de colectare a probei din Macea; Proba THVD = extract hidroalcoolic, locul de colectare a probei din Vatra Dornei; <QL = compus sub limita de cuantificare; valorile reprezintă media aritmetică $\pm$ deviația standard a trei măsurători independente ale injecțiilor replicate din același extract.

* Bota, V. B., Neamtu, A.-A., Olah, N.-K., Chișe, E., Burtescu, R. F., Pripon Furtuna, F. R., Nicula, A.-S., Neamtu, C., Maghiar, A.-M., Ivănescu, L.-C., Zamfirache, M.-M., Mathe, E., Turcuș, V., 2022 - A Comparative Analysis of the Anatomy, Phenolic Profile, and Antioxidant Capacity of *Tussilago farfara* L. Vegetative Organs. Plants, 11(13), 1663.



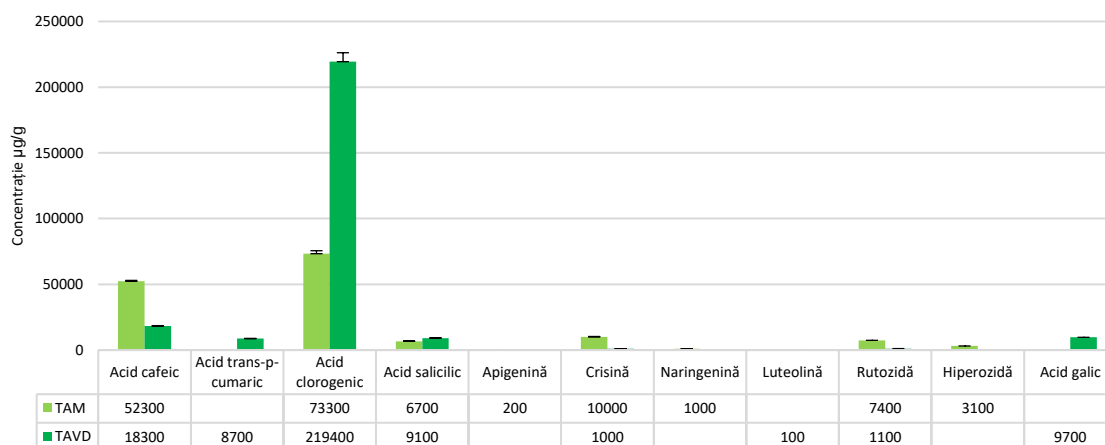
Graf. 5.1. Analiza LC/MS a extractului hidroalcoolic de *Tussilago farfara* L. (herba) recoltată din Macea (THM), respectiv din Vatra Dornei (THVD).

Tabel 5.2.

Evaluarea calitativă și cantitativă a polifenolilor din extracte apoase de *Tussilago farfara* L. prin LC/MS

Nr. crt.	Compuși	Proba TAM [µg/g plantă uscată]	Proba TAVD [µg/g plantă uscată]
1	Acid cafeic	52300 ± 700	18300 ± 270
2	Acid clorogenic	73300 ± 2270	219400 ± 6800
3	Acid trans- <i>p</i> -cumaric	<QL	8700 ± 130
4	Acid galic	<QL	9700 ± 300
5	Acid salicilic	6700 ± 100	9100 ± 130
6	Luteolină	<QL	100 ± 10
7	Luteolin-7-O-glucozidă	<QL	<QL
8	Hiperozidă	3100 ± 100	<QL
9	Rutozidă	7400 ± 230	1100 ± 30
10	Kaempferol	<QL	<QL
11	Miricetină	<QL	<QL
12	Apigenină	200 ± 10	<QL
13	Crisină	10000 ± 310	1000 ± 30
14	Naringenină	1000 ± 30	<QL
15	Carnosol	<QL	<QL

Abrevieri: Proba TAM = extract apos, locul de colectare a probei din Macea; Proba TAVD = extract apos, locul de colectare a probei din Vatra Dornei; <QL = compus sub limita de cuantificare; valorile reprezintă media aritmetică ± deviația standard a trei măsurători independente ale injecțiilor replicate din același extract.



Graf. 5.2. Analiza LC/MS a extractului apos de *Tussilago farfara* L. (herba) recoltată din Macea (TAM), respectiv din Vatra Dornei (TAVD).

5.5. Analiza comparativă a conținutului de polifenoli din extractele de *Tussilago farfara* L. în contextul factorilor de mediu

Diferențele cantitative și calitative între cele două tipuri de extract, hidroalcoolic și apos, își pot găsi explicația prin gradul de solubilitate diferit în solventul compușilor polifenolici analizați la punctul anterior. Diferențele observate între cele două populații de *T. farfara* L. aparținând regiunilor de câmpie și de munte, caracterizate de condiții pedoclimatice complet diferite, pot fi explicate, conform literaturii de specialitate prin genotip și/sau factori de mediu (Liu și colab, 2016; Tsusaka, 2019; Chelghoum și colab., 2021). Între factorii de mediu cu o influență semnificativă asupra conținutului de compuși bioactivi din plante se numără și factorii pedoclimatici analizați în cadrul Capitolului 4. În cazul speciei *T. farfara* L. este cunoscut aportul mai mare al factorilor de mediu, comparativ cu genotipul, asupra conținutului de alcaloizi pirolizidinici, a căror cantitate este menținută la un nivel acceptabil în produsele comercializate, prin asigurarea unor condiții de cultivare controlate (Wawrosch, 2000).

Zona de câmpie corespunzătoare locației de recoltare a plantelor de *T. farfara* L. pentru analiza fitochimică este caracterizată de altitudine joasă (99 m), cu o climă temperat-continentală cu influențe oceanice, în care în anul recoltării plantelor (2020) temperatura medie anuală s-a situat între 12,2-12,7°C (în funcție de valorile emise de stațiile meteorologice din apropiere), cu aproximativ un grad mai mică decât în anul precedent. Tot în anul recoltării, iarna a fost mai caldă decât în anul precedent, cu media lunii ianuarie între -0,9 – -0,4°C, iar vara a fost mai caldă, cu media lunii iulie între 21,4 – 22,3°C. Maximele

s-au situat între 33,7 – 36,7°C, iar minimele au fost negative, între -10,4 și -7,3°C. Precipitațiile au scăzut în anul recoltării (2020) față de anul precedent, înregistrând 412,9 – 603,8 mm. În zona de recoltare de la câmpie, în anul 2020 au fost între 286-305 zile fără îngheț, fluctuațiile față de anul precedent fiind mai mici decât în zona de munte. Solul din locația de recoltare a prezentat un pH moderat alcalin (8,44), o cantitate extrem de mică de fosfor asimilabil (0,21 ppm), una foarte mare de potasiu asimilabil (663 ppm) și un aport în azot total scăzut (1,11%). Având în vedere preferințele ecologice ale speciei, descrise la punctul 2.1.4, putem afirma că parametrii pedoclimatici înregistrați în locația de recoltare de la câmpie corespund per ansamblu cerințelor plantelor de *T. farfara*, cu excepția indicelui de azot total, care este ușor sub optimul speciei (nitrofilă), dar situat în spectrul de toleranță.

În condițiile amintite mai sus, în extractele obținute din plantele recoltate din zona de câmpie au fost identificați un număr mai mare de polifenoli în extractul apos (8) decât în cel hidroalcoolic (5). Se remarcă un conținut mare de kaempferol în extractul hidroalcoolic (43000 μg/g plantă uscată) și lipsa acestuia din extractul apos, precum și conținutul mai mare de apigenină și naringenină (1500, respectiv 2500 μg/g plantă uscată) față de extractul apos. În condițiile de la câmpie, infuzia din herba de *T. farfara* L. a prezentat un conținutul mai mare de acid clorogenic (73300 μg/g plantă uscată) față de cel hidroalcoolic (10500 μg/g plantă uscată), acesta fiind compusul principal. În infuzie au fost prezenți acidul cafeic, acidul salicilic, rutozida și hiperozida, o cantitate mai mare de crisină, dar mai mică de apigenină și naringenină.

Zona de munte corespunzătoare locației de recoltare a plantelor de *T. farfara* L. pentru analiza fitochimică este caracterizată de altitudine mai mare (1027 m), cu o climă continentală rece și influențe scandinavo-baltice. Spre deosebire de zona de câmpie, în funcție de valorile emise de stațiile meteorologice din apropiere, temperaturile medii anuale sunt mai mici cu aproximativ 2-10°C (1,9-10,5°C în anul recoltării, 2020). Cu toate că tendința de încălzire față de anul precedent recoltării se păstrează și în zona de munte, iernile și verile sunt mai reci, cu temperaturi medii pentru lunile ianuarie și iulie din anul 2020 între -4,4 – -2,8°C, respectiv 10 – 19,9°C; cu maxime și minime scăzute în anul recoltării (2020), între 20,3 – 33,7°C, respectiv 19,5 – 15,1°C. Spre deosebire de câmpie, în zona de munte cantitatea anuală cumulată de precipitații este mai mare, 691,4 – 1419,5 mm în 2020, iar numărul zilelor fără îngheț este mai mic și marcat de fluctuații mai mari față de anul precedent (176-257 zile în 2020, 181-269 zile în 2019). Solul din locația de recoltare aparținând zonei montane s-a caracterizat prin pH neutru (7), cantitate extrem de mică de fosfor asimilabil, dar mai mare decât la câmpie (0,49 ppm), cantitate medie de potasiu

asimilabil (149 ppm) și aport de azot mai scăzut decât la câmpie (0,08%). Ca urmare, condițiile pedoclimatice din zona montană se încadrează în spectrul de toleranță dar ușor sub optimul preferat de specia *T. farfara* L. în ceea ce privește indicii de temperatură, umiditate și azot.

În aceste condiții, la populația analizată din Vatra Dornei au fost observate următoarele diferențe în conținutul de polifenoli al extractelor obținute: un număr mai mare de polifenoli în extractul hidroalcoolic (10) față de cel apos (8), lipsa apigeninei și naringeninei din ambele tipuri de extract și a hiperozidei din infuzie, precum și concentrația mai mare a compușilor analizați în extractul apos. Se remarcă în special concentrația de acid clorogenic din infuzie (219400 μg/g plantă uscată) și a acidului cafeic (18300 μg/g plantă uscată). În schimb, în extractul hidroalcoolic au fost identificați în plus carnosolul, miricetina, kaempferolul și luteolin-7-O-glucozida, iar în extractul apos rutozida, luteolina și crisina.

CAPITOLUL 6

CERCETĂRI MORFO-ANATOMICE ȘI FITOCHIMICE LA SPECIA *GERANIUM ROBERTIANUM L.*

6.6. Considerații privind caracterele morfo-anatomice și compoziția fitochimică a organelor vegetative la specia *Geranium robertianum L.*

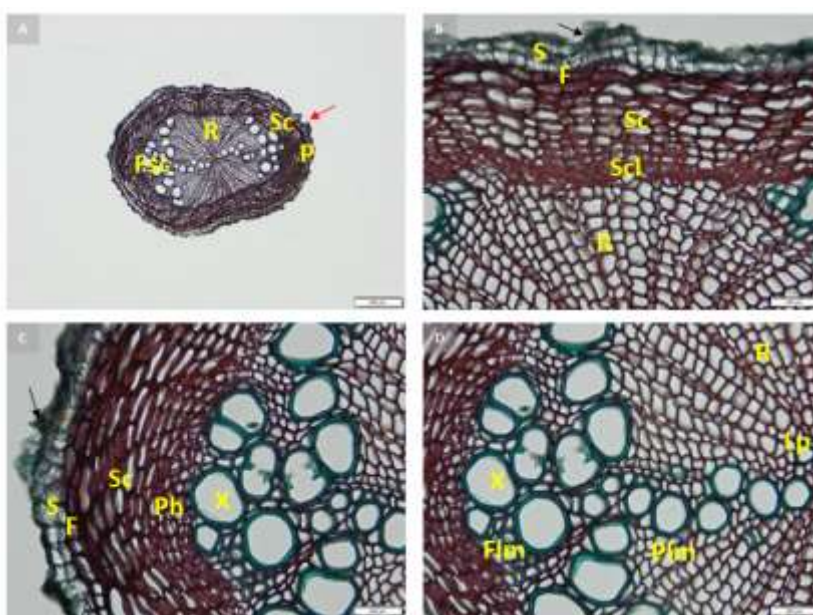
Rezultate de ordin morfo-anatomic obținute la specia *Geranium robertianum L.*:

- O caracterizare în detaliu fără precedent în literatura de specialitate a rădăcinii adventive, rizomului, tulpinii aeriene, pețiolului și limbului foliar la această specie, în baza imaginilor de microscopie optică*, SEM și TEM;
- Dintre elementele caracteristice speciei menționăm dispunerea corpului lemnos secundar în cilindrul central sub forma a două triunghiuri opuse de vase lemnoase, respectiv două triunghiuri de raze medulare parenchimatic omogene, care se sprijină cu baza pe cambiu, atât în structura rădăcinii adventive, cât și a rizomului*. Un aspect aparte observat în secțiunile transversale prin rizom este prezența unui parenchim acvifer localizat în două grupări opuse, la limita dintre parenchimul lemnos și libriform, care poate fi explicată prin rolul plantei în fitoremedierea substratului (Planșele 6.1.-6.3.). Imaginile SEM confirmă forma neregulat-ovală a rizomului, prezența suberului și a stratului extern de mucilagiu, alături de depozite amorfe, semi-sferice, particule fine și cristale (Planșa 6.8.). Mucilagiile sunt confirmate și de imaginile TEM (Planșele 6.13.-6.14.);
- Analiza secțiunilor transversale prin tulpina aeriană completează literatura de specialitate cu detalii noi despre structura anatomică și prezintă aspecte de variabilitate în conturul secțiunii transversale și diferențierea scoarței, importante în încadrarea speciei la grupul *Geranium* cu tuberculi (Planșa 6.4.). Micromorfologic, tulpina se caracterizează prin suprafață cu striatii paralele, la distanțe egale de $23,59 \pm 3,15 \mu\text{m}$, prin prezența a 3 tipuri de peri: (1) tectori, unicelulari, de $853,12 \pm 79,12 \mu\text{m}$ lungime, cu baza lată și vârful ascuțit, cu pereți celulari netezi, translucizi în imagini de microscopie optică și cu picături lipidice la interior, (2) tectori, unicelulari, cu lungime de $296,18 \pm 33,85 \mu\text{m}$, vârf ascuțit și aplecat în aceeași direcție, rar erecți, pereți celulari netezi, așezați grupat, mai rari decât precedenții, (3) peri scurți, conici, cu o gâtuire înainte de vârful scurt și conic, posibil secretori. Diferența morfologică față de perii menționați în literatura de specialitate a determinat denumirea acestor peri ca fiind de Tipul IV, Tipul V, respectiv peri scurți (Planșa 6.9.).

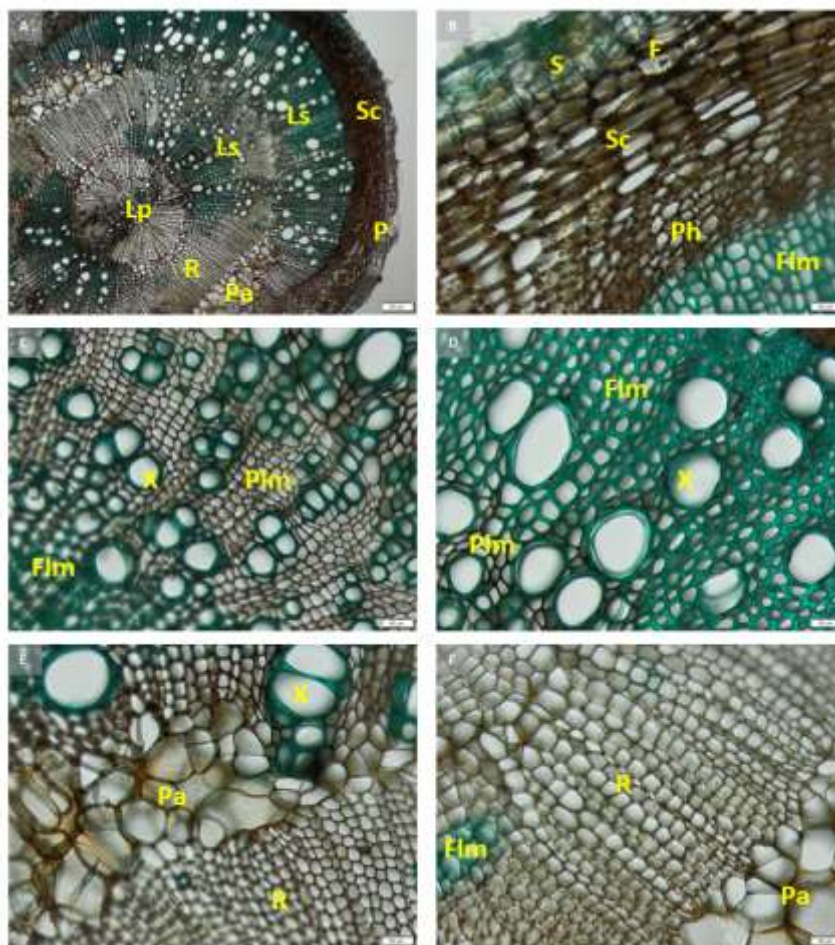
* Bota, V.B., Olah, N.K., Chișe, E., Arsene, G.-G., Zamfirache, M.-M., Turcuș, V. 2022b. Etude des structures morpho-anatomiques productrices de principes actifs utilisés en pharmacologie chez *Geranium robertianum L.*, Bulletin de la Société Française d'Ethnopharmacologie et de la Société Européenne d'Ethnopharmacologie/ Dossier spécial « Médecine traditionnelle de Roumanie » 66, Fleurentin Jacques, Kessler-Bilthauer Deborah, Weniger Bernard, Les Sociétés, Metz, France, ISSN 1261-4572.

– Analiza structurii anatomice a pețiolului a permis identificarea prezenței perilor tectori unicelulari, de dimensiuni mari și la acest organ, aspect aflat în opoziție cu datele din literatura de specialitate (Planșa 6.5.). Conform imaginilor SEM aceștia corespund perilor de Tip IV și V, cei din urmă fiind mai rari, dispuși în coloană de-a lungul striărilor (Planșa 6.10);

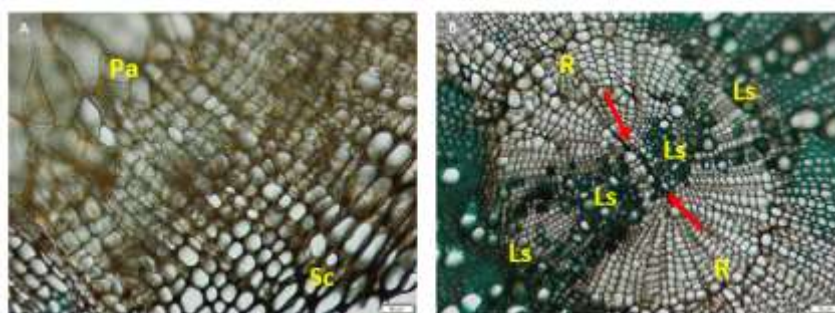
– Analiza secțiunilor transversale prin limbul foliar oferă o descriere completă a structurii anatomice a nervurii mediane și mezofilului, confirmând împreună cu imaginile de SEM prezența perilor tectori de tipul IV de-a lungul nervurilor, a perilor secretori de tipul I și II menționați în literatura de specialitate și prezența cristalelor în celulele corticale, care susțin includerea speciei la grupul *Geranium* cu tuberculi; conform rezultatelor obținute, stomatele și perii tectori sunt prezente pe ambele fețe ale limbului foliar, dar vizibil mai numeroase pe fața abaxială (Planșele 6.6.-6.7., 6.11.,-6.12.);



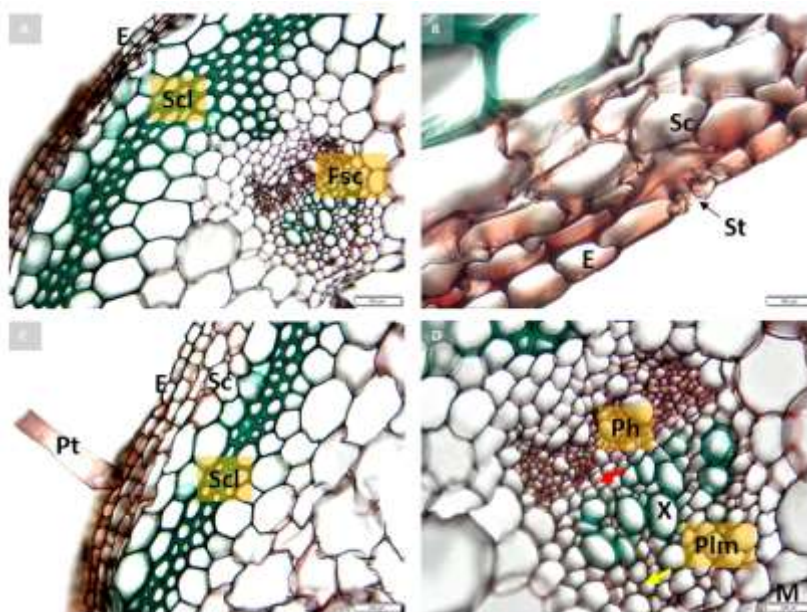
Planșa 6.1. A-D Secțiune transversală prin rădăcina adventivă la *Geranium robertianum* L. P – peridermă, Fsc – fascicul conductor, S – suber, F – felogen, Sc – scoarță, Scl – sclerenchim, Ph – floem, X – xilem, R – rază medulară, Flm – fibre lemnoase, Plm – parenchim lemnos, Lp – lemn primar, săgeată roșie – peridermă în exfoliere, săgeată neagră – substanțe gelatinoase.



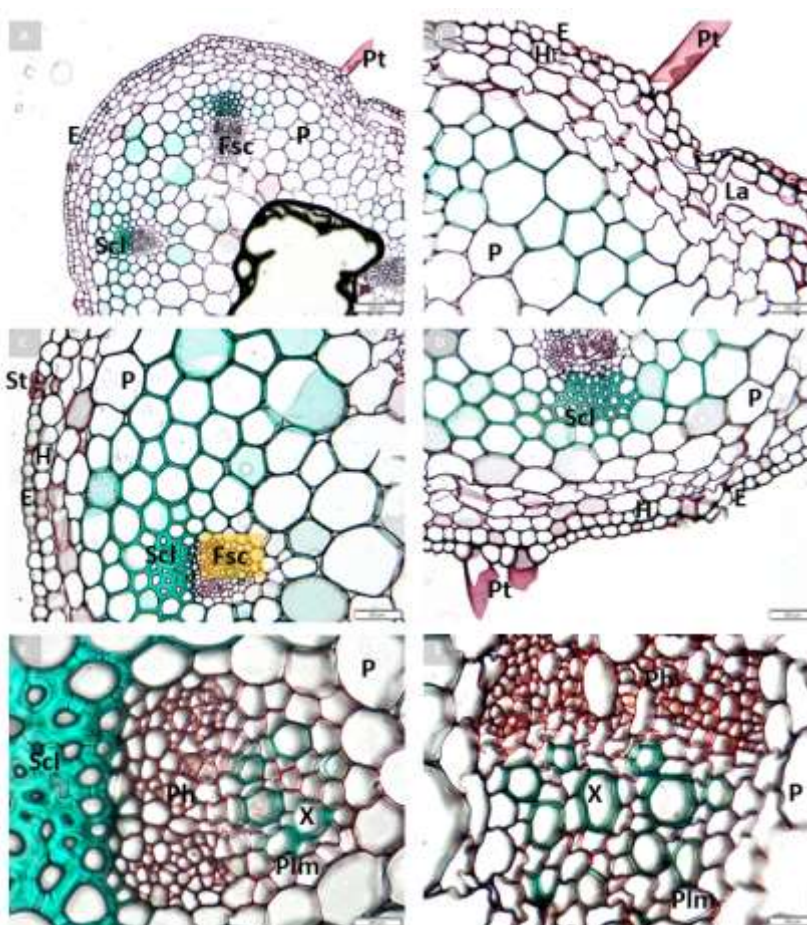
Planșa 6.2. A-F Secțiune transversală prin rizom la *Geranium robertianum* L. P – peridermă, Sc – scoarță, Ls – lemn secundar, Lp – lemn primar, R – raze medulare, Pa – parenchim acvifer, S – suber, F – felogen, Ph – floem, X – xilem, Flm – fibre lemnoase, Plm – parenchim lemnos.



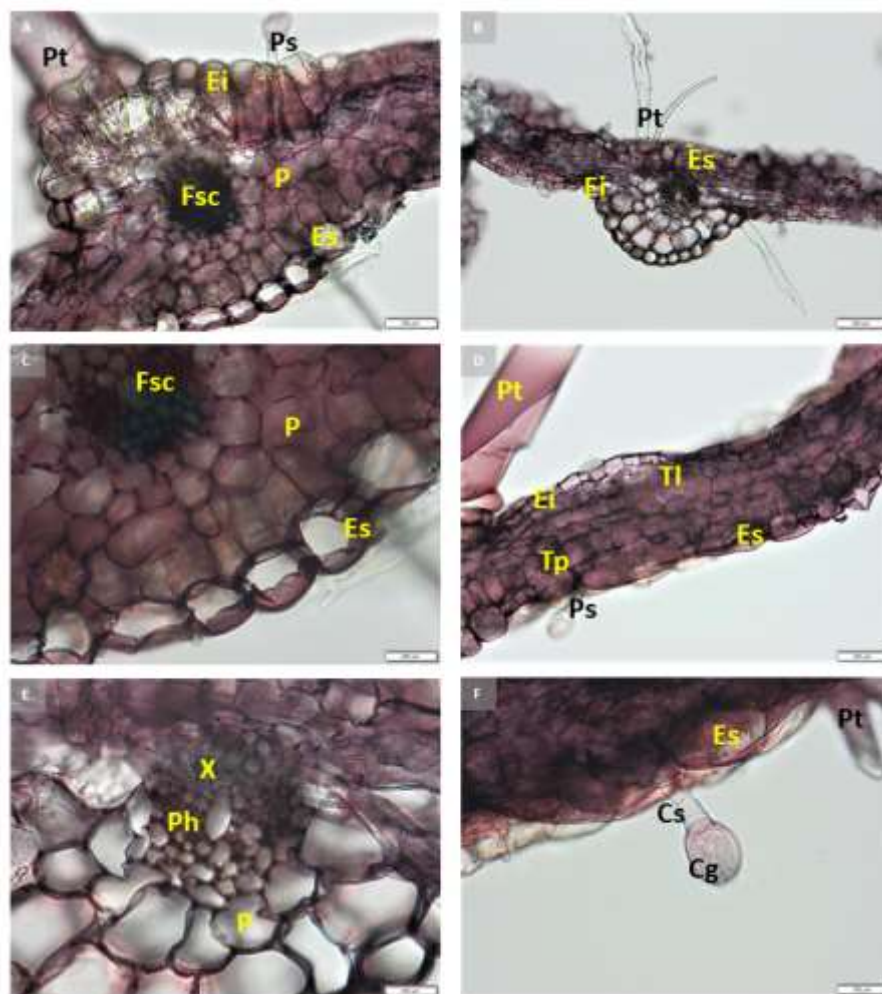
Planșa 6.3. A-B Secțiune transversală prin rizom la *Geranium robertianum* L.; A – Detaliu zonă de trecere de la parenchim acvifer la scoarță; B – detaliu sector central cu lemn primar și vârful celor două triunghiuri de lemn secundar. Pa – parenchim acvifer, Sc – scoarță, R – raze medulare, Ls – lemn secundar, săgeată roșie – lemn primar.



Planșa 6.4. A-D Secțiune transversală prin tulpina aeriană la *Geranium robertianum* L. E – epidermă, St – stomată, Pt – păr tector, Sc – scoarță, Scl – sclerenchim, Fsc – fascicul conducător, Ph – floem, X – xilem, Plm – parenchim lemnos, M – măduvă, săgeată roșie – procambiu, săgeată galbenă – protoxilem.



Planșa 6.5. Secțiune transversală prin pețiol la *Geranium robertianum* L. E – epidermă, H – hipodermă, P – parenchim, Pt – păr tector, St – stomată, Scl – sclerenchim, Fsc – fascicul conducător, Ph – floem, X – xilem, Plm – parenchim lemnos.



Planșa 6.6. A-F Secțiune transversală prin limbul foliar la *Geranium robertianum* L. A, C, E – Detalii ale nervurii mediane, B – Aspect de ansamblu, D, F – Detalii mezofil. Ei – epidermă inferioară, Es – epidermă superioară, Fsc – fascicul conductor, P – parenchim, Pt – păr tector, Ps – păr secretor, Tp – țesut palisadic, Tl – țesut lacunar, X – xilem, Ph – floem, Cs – celule suport, Cg – cap glandular.

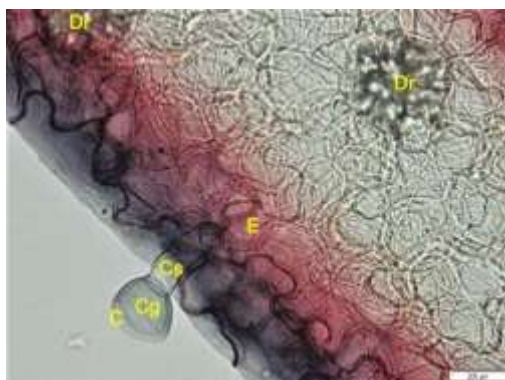
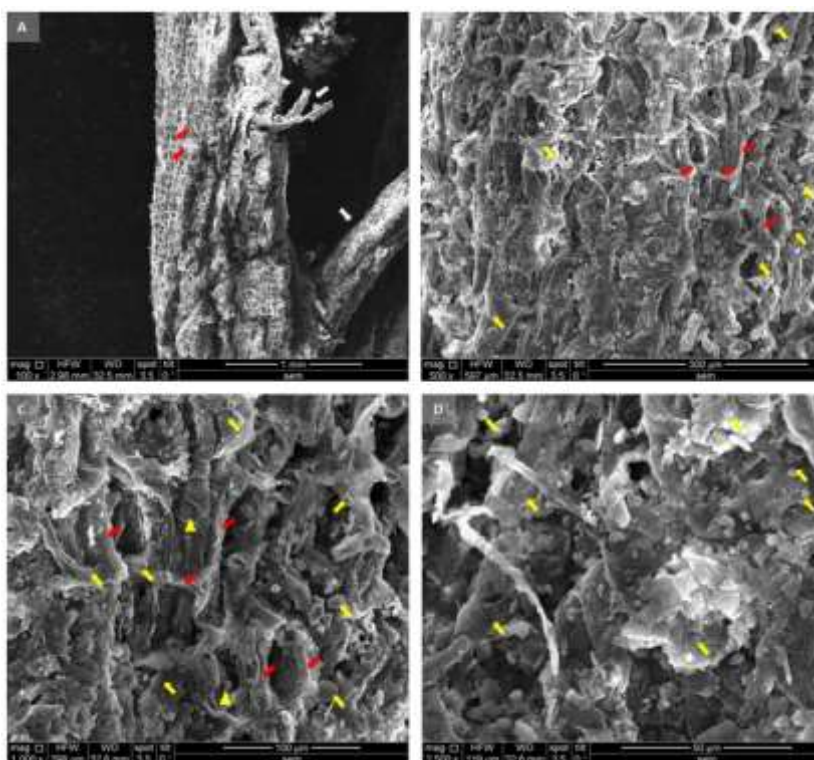
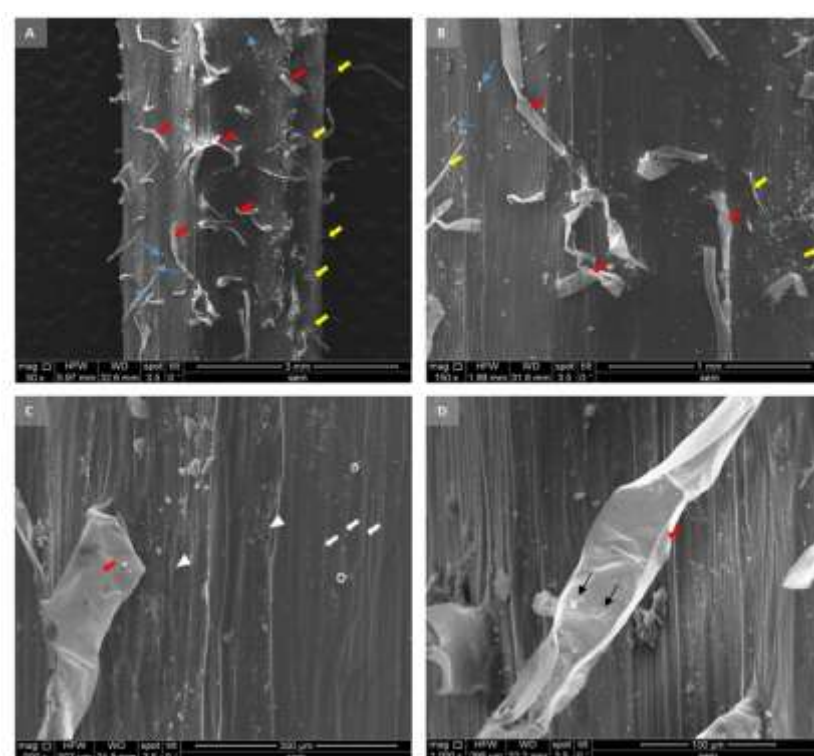


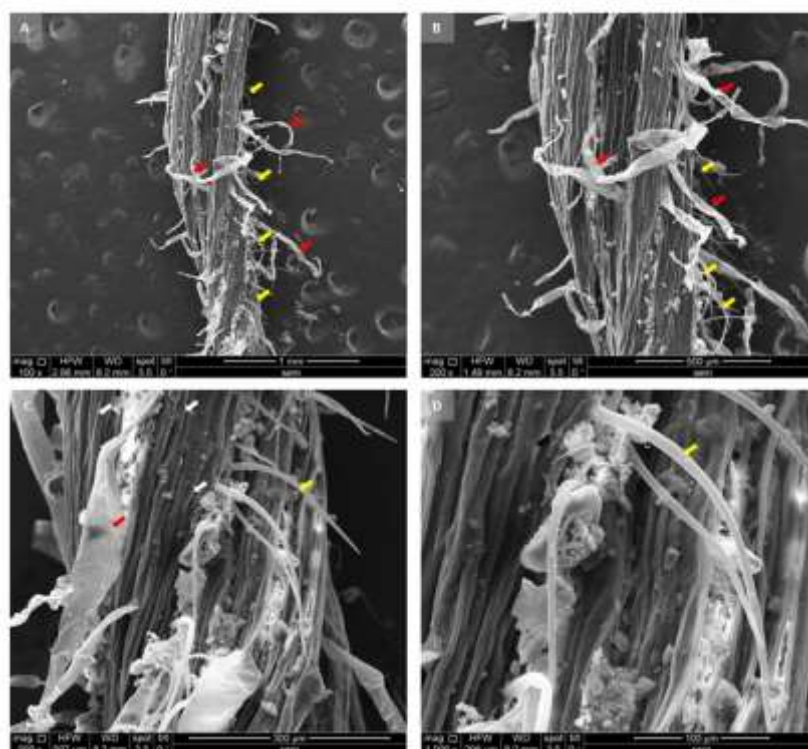
Fig. 6.7. Secțiune transversal-superficială prin limbul foliar internervural la *Geranium robertianum* L.; prin transparență se observă ursini (druze), iar la nivelul epidermei inserția unui păr secretor. E – epidermă, Dr – druze, Cs – celule suport, Cg – cap glandular, C – cuticulă.



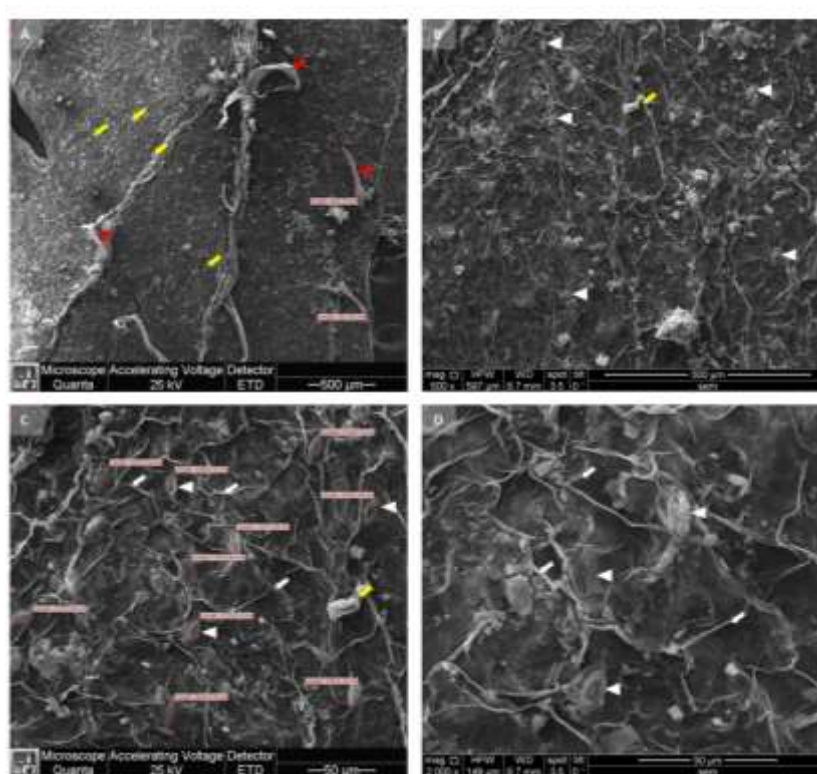
Planșa 6.8. A-D Microtopografia rizomului la *Geranium robertianum* L. Săgeată albă – ramificație laterală, săgeată roșie – perete celular, săgeată galbenă – mucilagii, cap de săgeată galbenă – cristal.



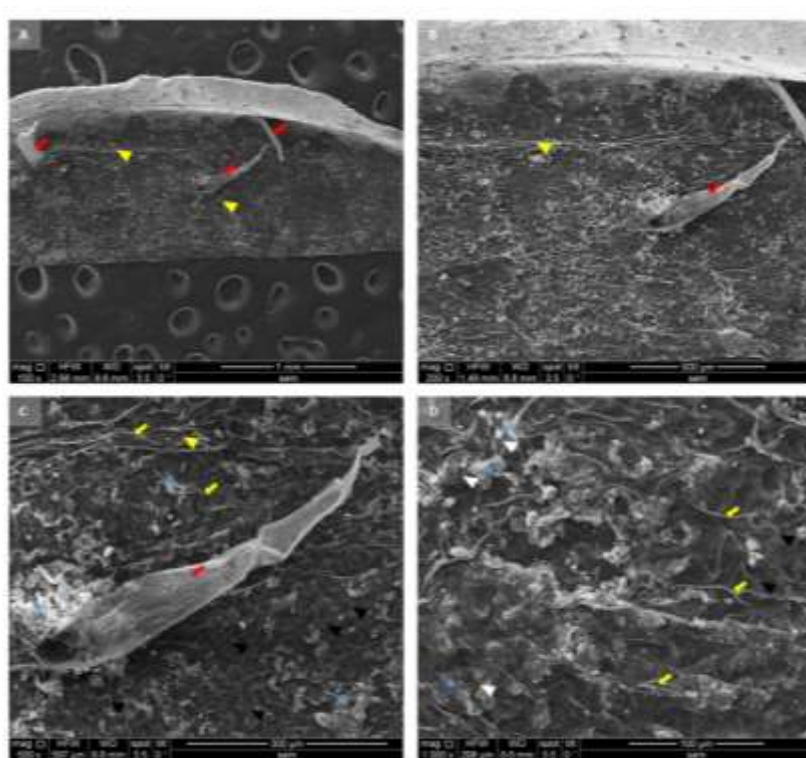
Planșa 6.9. A-D Microtopografia tulpinii aeriene la *Geranium robertianum* L.; C – detalii ale epidermei cu peri și stomate; D – detalii ale unui păr tector de Tip IV. Săgeată roșie – peri tectori de Tip IV, săgeată galbenă – peri tectori de Tip V, săgeată albastră – peri scurți, săgeată albă – striatii ale epidermei, cap de săgeată albă – stomată, săgeată neagră – particule fine pe suprafața pereților perilor de Tip IV.



Planșa 6.10. A-D Microtopografia pețiolului la *Geranium robertianum* L. Săgeată roșie – peri tectori de Tip IV, săgeată galbenă – peri tectori de Tip V, săgeată albă – striaiții, săgeată neagră – aspect neted al cuticulei.



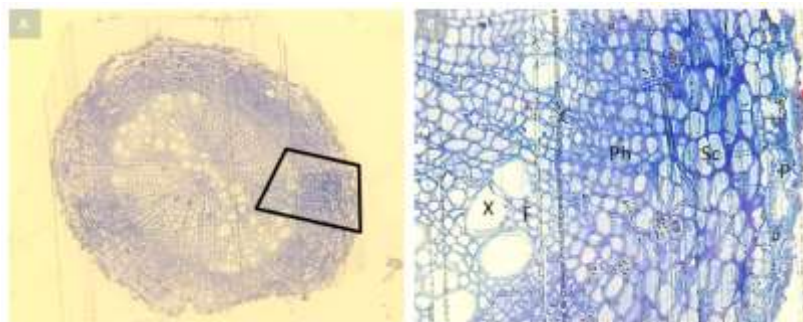
Planșa 6.11. A-D Microtopografia epidermei inferioare a limbul foliar la *Geranium robertianum* L. Săgeată roșie – peri tectori de Tipul IV, săgeată galbenă – peri secretori, săgeată albă – cuticula cutată, cap de săgeată albă – stomate.



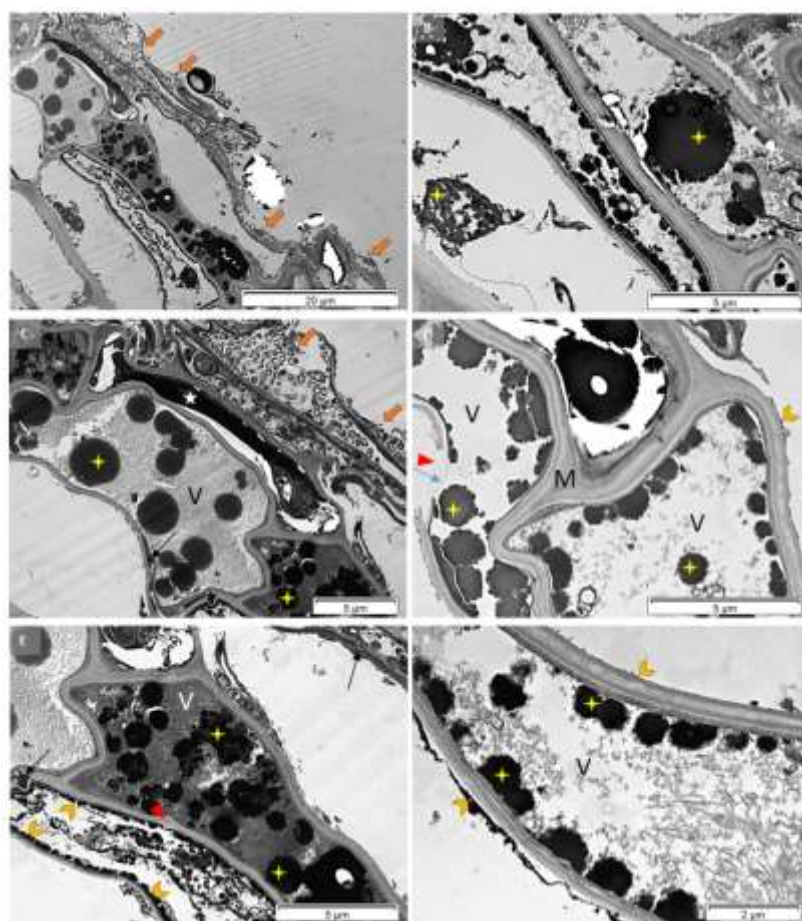
Planșa 6.12. A-D Microtopografia epidermei superioare a limbul foliar la *Geranium robertianum* L. Săgeată roșie – păr tector de Tipul IV, cap de săgeată galbenă – nervură, săgeată galbenă – cuticulă cutată, cap de săgeată neagră – pereți laterali ondulați ai celulelor epidermice, cap de săgeată albă – stomate, săgeată albastră – depozite de săruri și particule amorfe.

Imaginile TEM indică în cazul rădăcinii adventive prezența unor depozite de taninuri în celulele peridermei, a căror abundență scade treptat spre scoarță, respectiv metaboliți secundari care apar atât în celulele peridermei, cât și ale liberului și lemnului secundar (Planșele 6.13.-6.14.). În cazul rizomului au fost observate numeroase depozite intra și intercelulare între endodermă și cambiu, aspectul lor sugerând o natură fenolică, respectiv lipidică, iar în celulele parenchimului lemnos au fost observate formațiuni de natură cristalină (Planșele 6.17.-6.18., 6.20). Analiza ultrastructurală a tulpinii aeriene cuprinde aspecte ale celulelor hipodermice precum depozite aciculare intravacuolare și formațiuni electron-dense în cloroplaste asociate cu ruperea membranei acestora, pentru care nu a fost găsită o explicație în literatura de specialitate; formațiuni electron-dense de natură necunoscută, prezența cloroplastelor și a corpurilor multiveziculare în parenchimul liberian (Planșele 6.21.-6.22.). Depozite aciculare au fost observate, de asemenea, în celulele epidermice ale pețiolului, spre interiorul peretelui celular și la exteriorul celulelor hipodermice, spre camera aeriferă (Planșele 6.24.-6.26.). În cadrul limbului foliar se remarcă dimensiunea celulelor din epiderma adaxială superioară celorlalte celule din organ, majoritatea depozitelor intravacuolare observate fiind acumulate la acest nivel și mai rar în

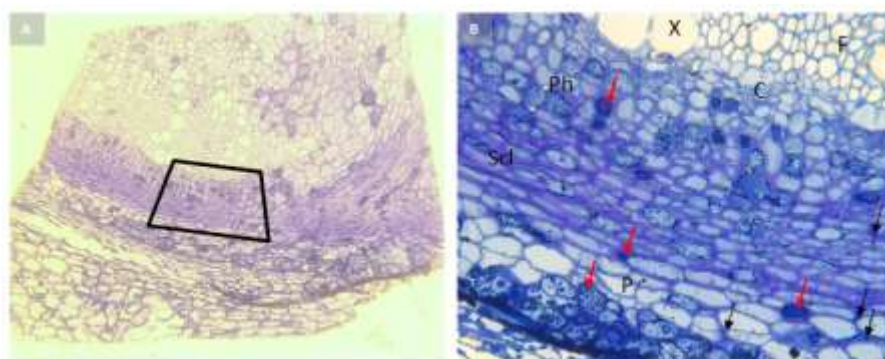
celule palisadice, lacunare sau ale epidermei abaxiale; extravacuolar au fost observate depozite de taninuri și picături lipidice mari în cloroplaste, care pot fi asociate cu stresul abiotic din mediu cauzat de aportul scăzut de azot, confirmat de analiza solului din locația de recoltare (Planșele 6.27.-6.28.).



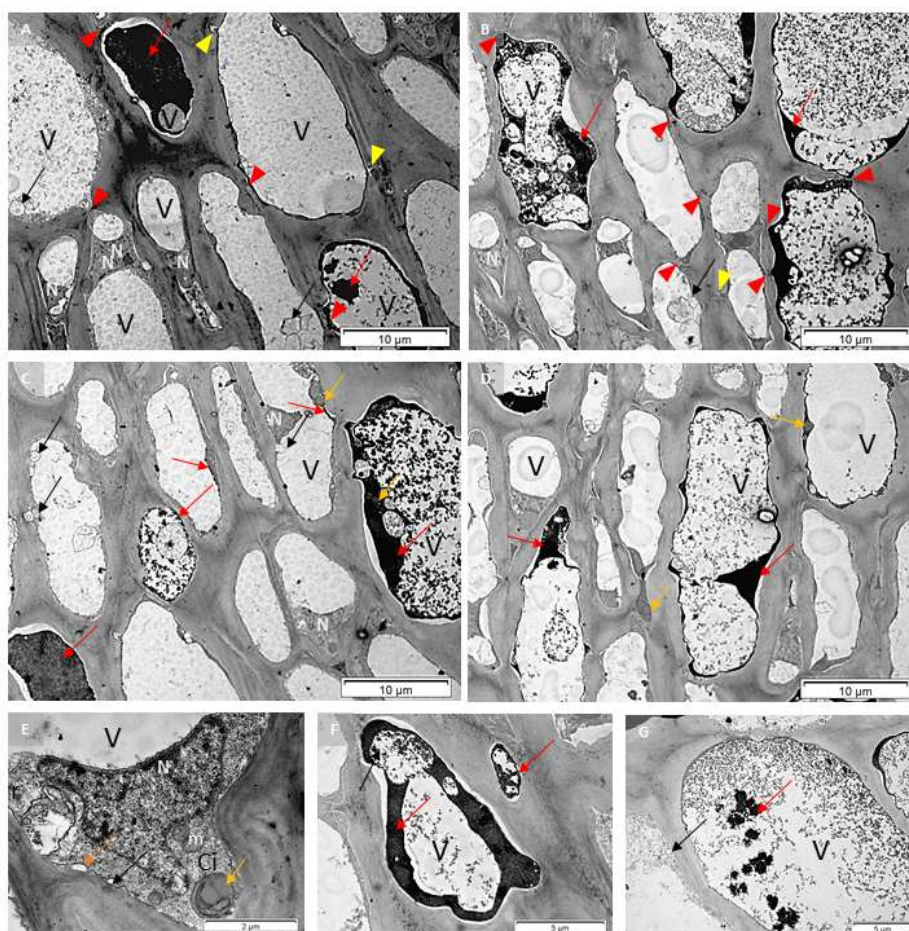
Planșa 6.13. A – Secțiune transversală semifină prin rădăcina adventivă la *Geranium robertianum* L. cu zona selectată pentru analiza TEM (în trapez), 10X; B – detaliu sector marginal analizat, 40X. P – peridermă, Sc – scoarță, Ph – floem, C – cambiu, X – xilem, F – fibre lemnoase, săgeată roșie – mucilagii.



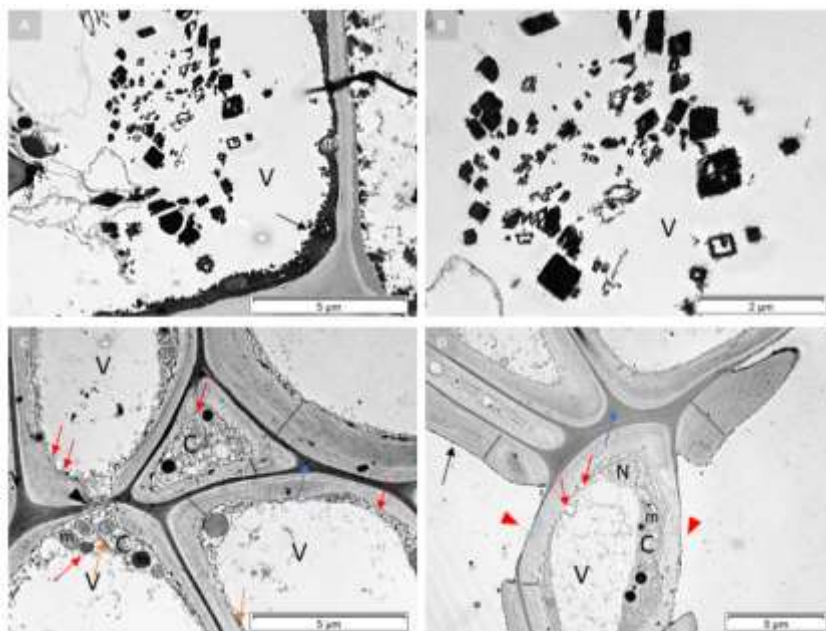
Planșa 6.14. A-F Aspecte din ultrastructura celulelor din periderma rădăcinii adventive la *Geranium robertianum* L., cu rol în sinteza și stocarea compușilor bioactivi; C-E reprezintă detalii din figura A. V – vacuole cu depozite granulare, M – meat, săgeată albastră – lamela mediană, săgeată portocalie – mucilagii la exteriorul peridermei, cap de săgeată roșie – punctuațiune, steluță galbenă – depozite de taninuri, steluță albă – depozit compact de taninuri, săgeată neagră – depozit intercelular, săgeată chevron galbenă – depozite electrodense în stadii incipiente, de-a lungul tonoplastului.



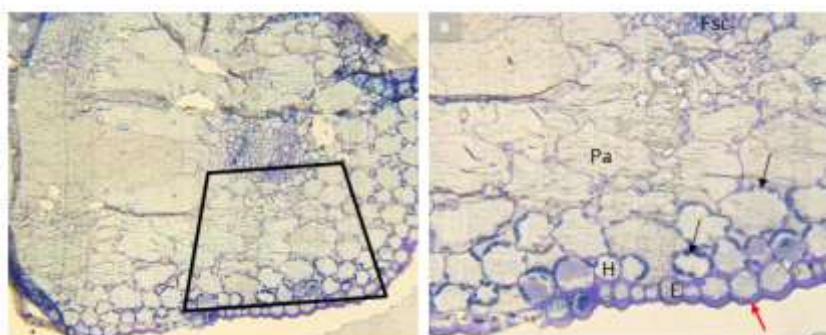
Planșa 6.17. A – Secțiune transversală semifină prin rizom la *Geranium robertianum* L. cu zona selectată pentru analiza TEM (în trapez), 10X; B – detaliu sector din cilindrul central, 40X. P – periciclu, Scl – sclerenchim, Ph – floem, X – xilem, C – cambiu, F – fibre lemnoase, săgeată roșie – depozite intracelulare, săgeată neagră – depozite intercelulare.



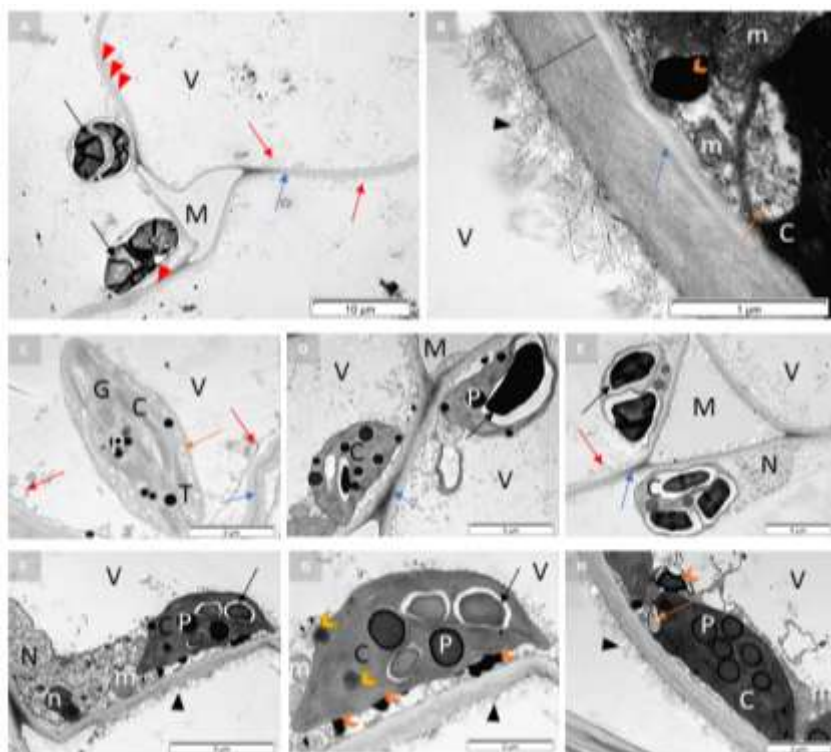
Planșa 6.18. A-D – Sector de sclerenchim perifloemic la rizomului la *Geranium robertianum* L.; E-F – detalii din ultrastructura celulelor sclerenchimatice. V – vacuolă, N – nucleu, m – mitocondrie, Ci – citoplasmă, r-ribozomi, săgeată portocalie – reticul endoplasmatic rugos, săgeată roșie – depozit electron-dens, săgeată neagră – vezicule, săgeată galbenă – picături lipidice, cap de săgeată roșie – plasmodesme, cap de săgeată galbenă – punctuațiune care comunică cu apoplastul.



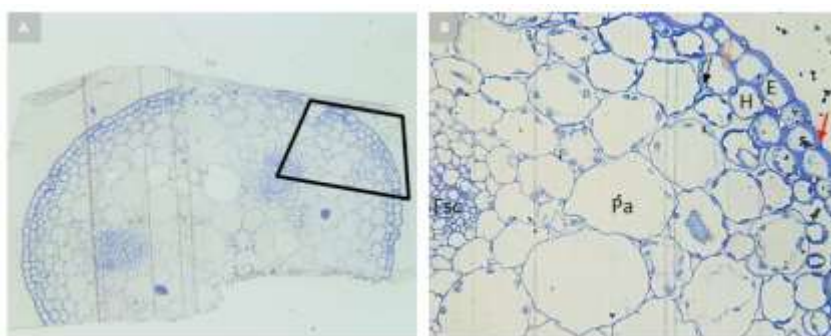
Planșa 6.20. A-B – Sector de parenchim lemnos al rizomului la *Geranium robertianum* L. cu depozite electron-dense intracitoplasmatic și cristale intravacuolare; C-D – sector de xilem și fibre lemnoase. V – vacuolă, C – citoplasmă, N – nucleu, m – mitocondrie, bară neagră – perete celular, săgeată albastră – lamelă mediană, săgeată portocalie – reticul endoplasmatic rugos, săgeată roșie – vezicule, săgeată neagră – depozite electron-dense, cap de săgeată roșie – punctuațiuni mărginite pe partea xilemnului, cap de săgeată neagră – plasmodesme.



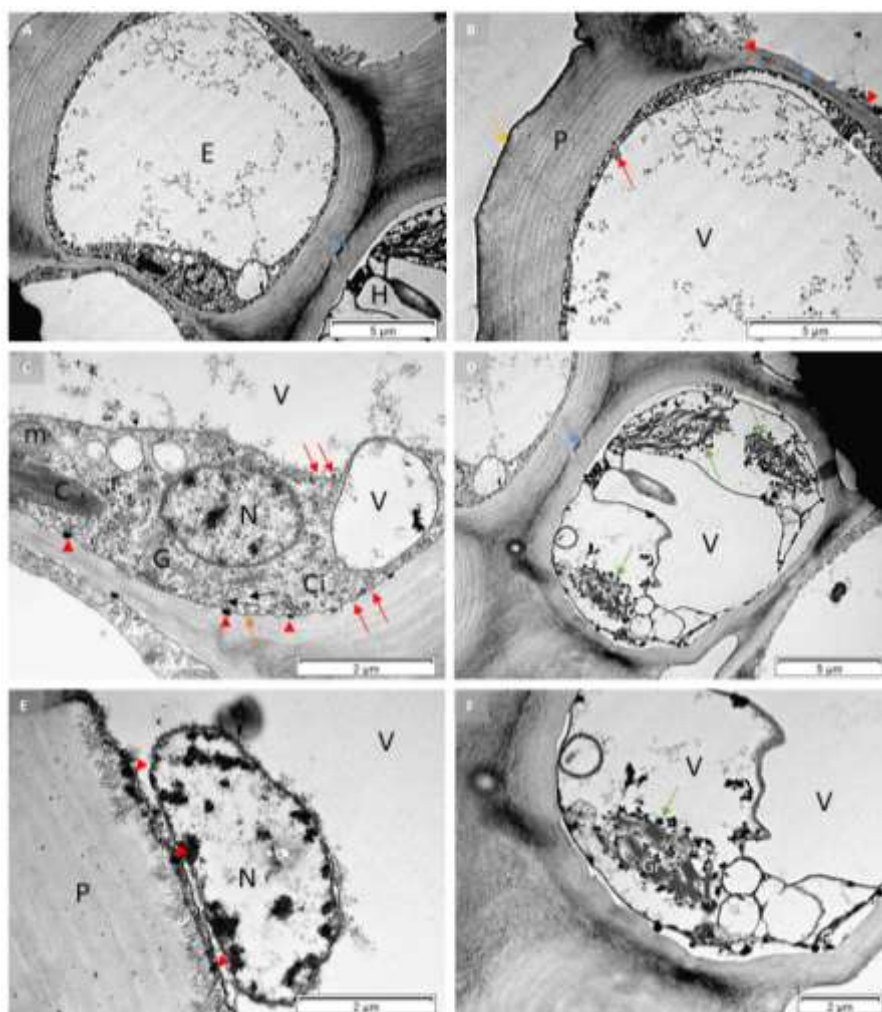
Planșa 6.21. A – Secțiune transversală semifină prin tulpina aeriană la *Geranium robertianum* L. cu zona selectată pentru analiza TEM (în trapez), 10X; B – detaliu sector marginal analizat, 40X. E – epidermă, H – hipodermă, Pa – parenchim cortical, Fsc – fascicul conducător libero-lemnos, săgeată roșie – cuticulă, săgeată neagră - cloroplaste.



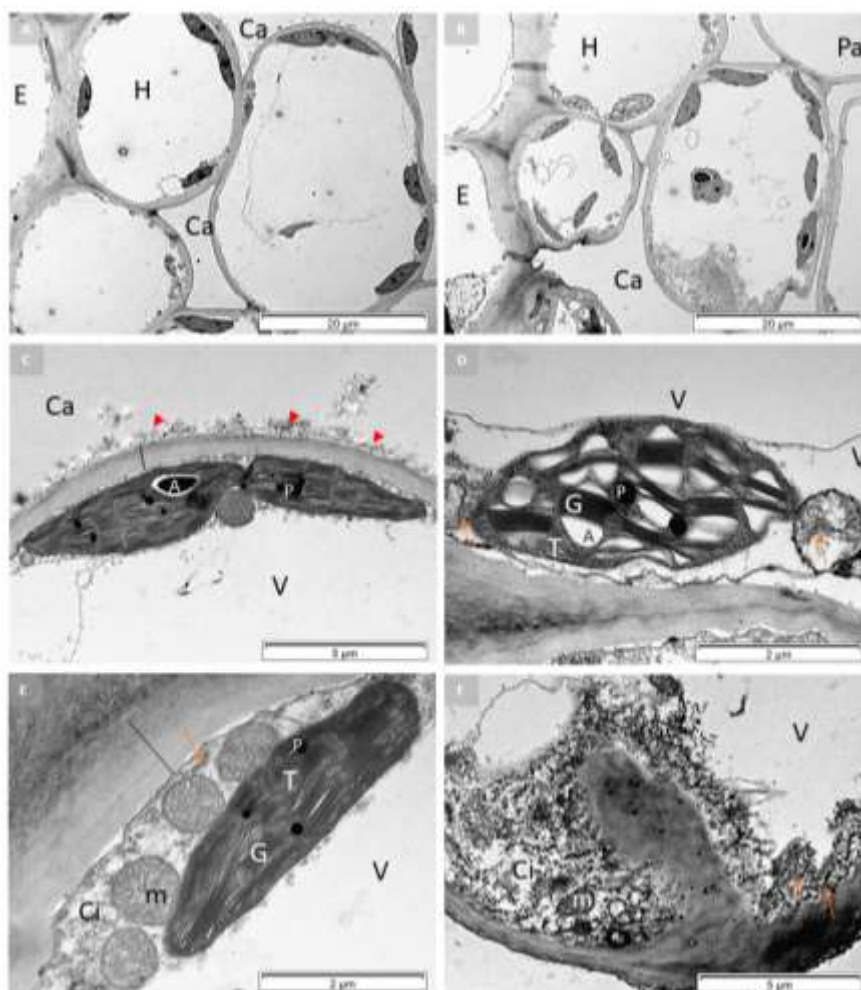
Planșa 6.22. A-H Aspecte din ultrastructura celulelor parenchimului cortical al tulpinii aeriene la *Geranium robertianum* L.; A – sector de celule parenchimatiche cu depozite de amidon; B – detaliu din figura H cu depozite aciculare; C-H – detalii din ultrastructura plastidelor și nucleului. V – vacuolă, M – meat, C – cloroplast, m – mitocondrie, G – grana, T – tilacoide, P – plastoglobuli, N – nucleu, n – nucleol, săgeată neagră – granule de amidon, săgeată albastră – lamela mediană, săgeată roșie – vezicule de transport, săgeată portocalie – vezicule în stroma cloroplastului, cap de săgeată neagră – depozite aciculare, bară neagră – perete celular, săgeată chevron galbenă – formațiuni electron-dense în cloroplast asociate cu ruperea membranei, săgeată chevron portocalie – formațiuni electron-dense intracitoplasmatiche, cap de săgeată roșie - plasmodesme.



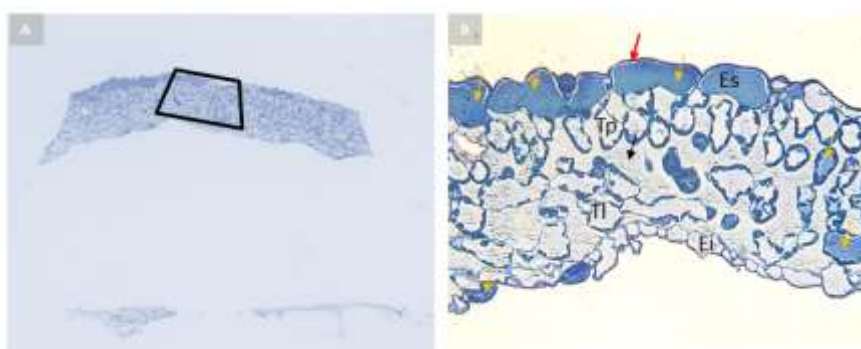
Planșa 6.24. A – Secțiune transversală semifină prin pețiol la *Geranium robertianum* L. cu zona selectată pentru analiza TEM (în trapez), 10X. B – detaliu sector marginal analizat, 40X. E – epidermă, H – hipodermă, Pa – parenchim fundamental, Fsc – fascicul conducător libero-lemnos, săgeată roșie – cuticulă, săgeată neagră – cloroplaste, săgeată portocalie - nucleu.



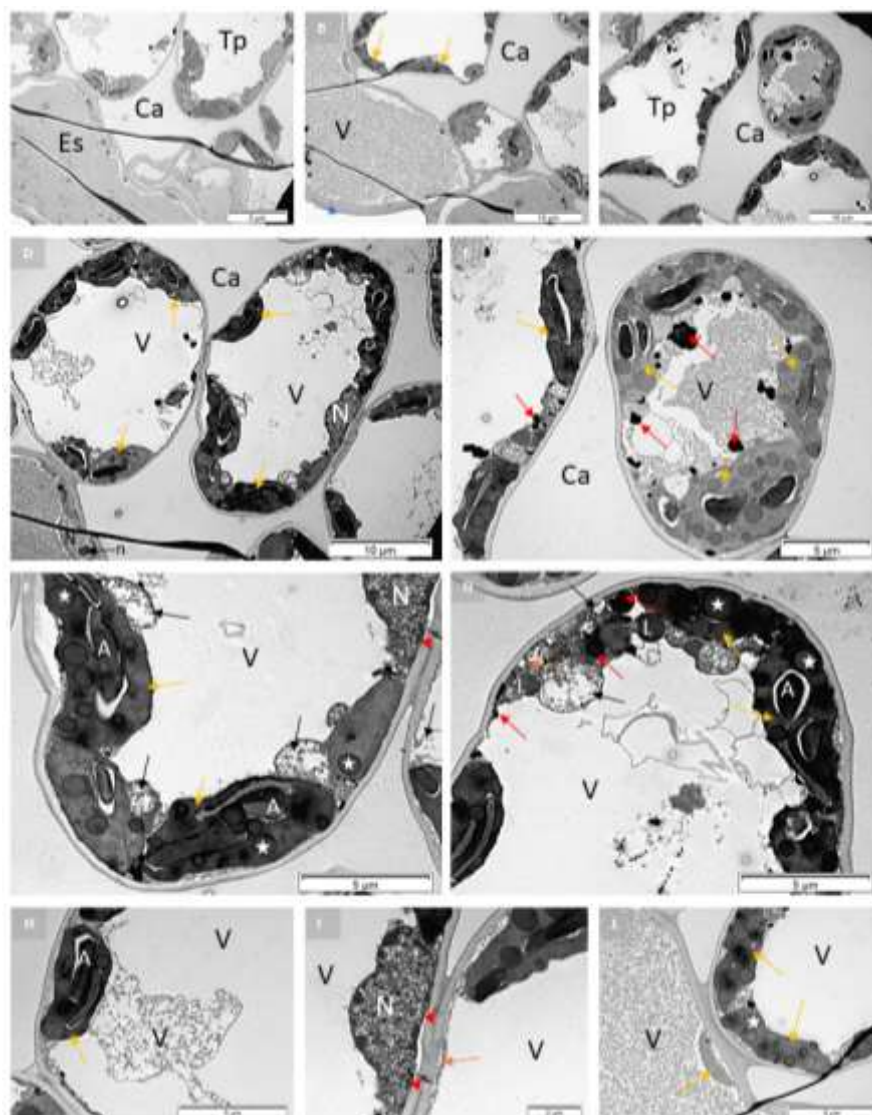
Planșa 6.25. A-C, E – Aspecte din ultrastructura celulelor epidermice ale pețiolului la *Geranium robertianum* L.; D – celulă hipodermică, cu detaliu în figura F; B,C reprezintă detalii din figura A. E – epidermă, P – perete celular extern, V – vacuolă, N – nucleu, Ci – citoplasmă, G – Aparat Golgi, r – ribozomi, m – mitocondrie, C – cloroplast, Gr – grana, săgeată galbenă – cuticulă, săgeată albastră – lamelă mediană, săgeată roșie – vezicule de transport, săgeată neagră – vezicule golgiene, săgeată verde – cloroplast parțial degradat, cap de săgeată roșie – depozite electron-dense.



Planșa 6.26. A-F – Aspecte din ultrastructura celulelor din hipodermă și parenchim fundamental ale pețiolului la *Geranium robertianum* L.; C, E reprezintă detalii din figura A (hipodermă); D, F reprezintă detalii din figura B (strat extern al parenchimului fundamental). E – epidermă, H – hipodermă, Ca – cameră aeriferă, Pa – parenchim, V – vacuolă, A – amidon, P – plastoglobul, T – tilacoide, G – grana, m – mitocondrie, Ci – citoplasmă, bară neagră – perete celular, săgeată portocalie – reticul endoplasmatic rugos, cap de săgeată roșie – depozite electron-dense aciculare.



Planșa 6.27. A – Secțiune transversală semifină prin limbul foliar la *Geranium robertianum* L. cu zona selectată pentru analiza TEM (în trapez), 10X; B – detaliu sector de mezofil analizat, 40X. Es – epidermă superioară, Ei – epidermă inferioară, Tp – țesut palisadic, Tl – țesut lacunos, săgeată roșie – cuticulă, săgeată neagră – cameră aeriferă, săgeată galbenă – depozite intravacuolare.



Planșa 6.28. A-J – Aspecte din ultrastructura epidermei superioare și țesutului palisadic ale limbului foliar la *Geranium robertianum* L.; D – detaliu din figura A; F-I – detalii din figura D; E – detaliu din figura C; J – detaliu din figura B. Es – epidermă superioară, Ca – cameră aeriferă, Tp – țesut palisadic, V – vacuolă, N – nucleu, n – nucleol, L – lizozom, A – amidon, săgeată galbenă – cloroplast, săgeată roșie – depozit electron-dens, săgeată neagră – veziculă, săgeată albastră – cuticulă, săgeată portocalie – reticul endoplasmatic rugos, steluță albă – picătură lipidică, cap de săgeată roșie – plasmodesme.

Rezultate obținute în urma analizei fitochimice a extractelor obținute din plante de *Geranium robertianum* L. aparținând celor două populații recoltate din flora spontană a celor două zone geografice din România (zona de câmpie – Macea, zona de munte – Vatra Dornei):

În urma analizei LC/MS a extractelor din plante integrale de *Geranium robertianum* L. au fost identificați 14 polifenoli în extractele hidroalcoolice obținute din indivizi recoltați din Macea și Vatra Dornei (Tabel. 6.1.), respectiv 12 polifenoli în infuzia din indivizi recoltați de la Macea și 7 în infuzia din indivizi recoltați de la Vatra Dornei (Tabel 6.2.).

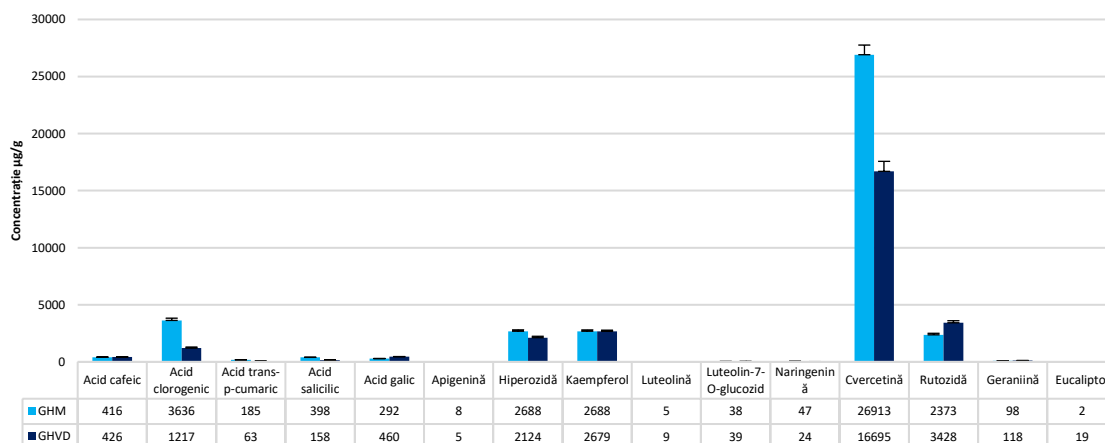
Analiza GC/MS a permis identificarea eucaliptolului în toate extractele de *G. robertianum* L. obținute, în cantități mai mari în materialul vegetal provenit din zona montană. În cazul acestei specii s-a identificat pentru prima dată prezența eucaliptolului, acidului salicilic, apigeninei, luteolin-7-O-glucozidei și a acidului trans-*p*-cumaric. Au fost observate cantități notabil mai mari de acid clorogenic, cvercetină, acid trans-*p*-cumaric, acid salicilic și naringenină în extractul hidroalcoolic din plante recoltate din Macea, respectiv mai mari de acid galic, rutozidă și geraniină în cel din plante recoltate din Vatra Dornei. Cu excepția eucaliptolului, în infuziile analizate au fost observate cantități mai mari de polifenoli în materialul vegetal recoltat de la Macea, comparativ cu cel de la Vatra Dornei. Toți polifenolii identificați sunt însă în cantități mult mai mari în extractele hidroalcoolice comparativ cu cele apoase. Compusul principal din extractele analizate a fost cvercetina, în cantități mai mari în materialul vegetal recoltat de la câmpie (Graf. 6.1.-6.2.).

Tabel 6.1.

Evaluarea calitativă și cantitativă a polifenolilor din extracte hidroalcoolice de *Geranium robertianum* L. prin LC/MS și GC/MS

Nr. crt.	Compuși	Proba GHM [μg/g plantă uscată]	Proba GHVD [μg/g plantă uscată]
1	Acid cafeic	416 ± 10.4	426 ± 10.2
2	Acid clorogenic	3636 ± 197.5	1217 ± 87.2
3	Acid trans- <i>p</i> -cumaric	185 ± 3.8	63 ± 2.4
4	Acid salicilic	398 ± 10.1	158 ± 3.5
5	Acid galic	292 ± 8.6	460 ± 10.6
6	Apigenină	8 ± 0.1	5 ± 0.1
7	Hiperozidă	2728 ± 117.2	2124 ± 121.2
8	Kaempferol	2688 ± 108.9	2679 ± 101.9
9	Luteolină	5 ± 0.1	9 ± 0.1
10	Luteolin-7-O-glucozidă	38 ± 0.5	39 ± 0.5
11	Naringenină	47 ± 0.7	24 ± 0.5
12	Cvercetină	26913 ± 847.2	16695 ± 875.2
13	Rutozidă	2373 ± 134.5	3428 ± 179.4
14	Geraniină	98 ± 3.1	118 ± 3.7
15	Eucaliptol (GC/MS)	2 ± 0.1	19 ± 0.5

Abrevieri: Proba GHM = extract hidroalcoolic, locul de colectare a probei din Macea; Proba GHVD = extract hidroalcoolic, locul de colectare a probei din Vatra Dornei.



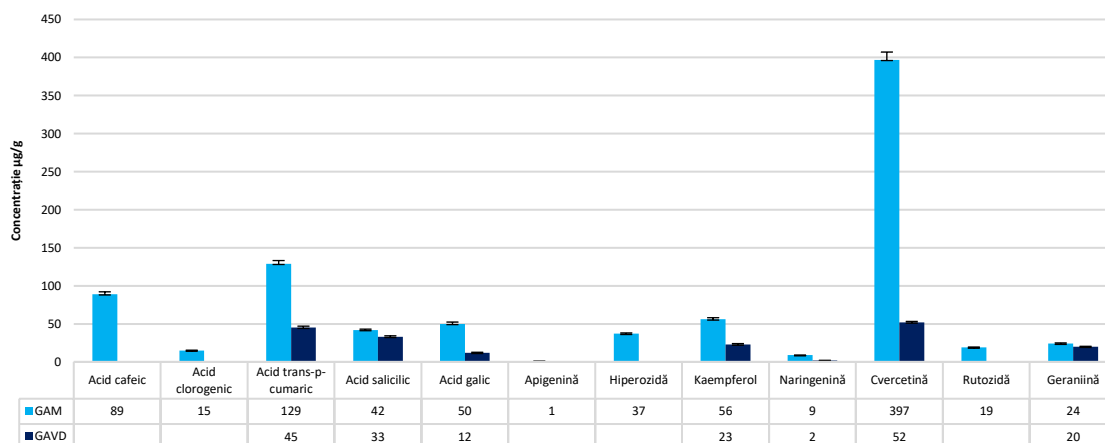
Graf. 6.1. Analiza LC/MS a extractului hidroalcoolic obținut din plante integrale de *Geranium robertianum* L. aparținând celor două populații luate în studiu - din Macea (GHM), respectiv din Vatra Dornei (GHVD).

Tabel 6.2.

Evaluarea calitativă și cantitativă a polifenolilor din extracte apoase de *Geranium robertianum* L. prin LC/MS și GC/MS

Nr. crt.	Compuși	Proba GAM [µg/g plantă uscată]	Proba GAVD [µg/g plantă uscată]
1	Acid cafeic	89 ± 3.1	<QL
2	Acid clorogenic	15 ± 0.4	<QL
3	Acid trans- <i>p</i> -cumaric	129 ± 4.2	45 ± 2.0
4	Acid salicilic	42 ± 1.1	33 ± 1.3
5	Acid galic	50 ± 2.4	12 ± 0.7
6	Apigenină	1 ± 0.1	<QL
7	Hiperozidă	37 ± 1.0	<QL
8	Kaempferol	56 ± 2.1	23 ± 1.1
9	Luteolină	<QL	<QL
10	Luteolin-7-O-glucozidă	<QL	<QL
11	Naringenină	9 ± 0.1	2 ± 0.1
12	Cvercetină	397 ± 10.2	52 ± 1.2
13	Rutozidă	19 ± 0.6	<QL
14	Geraniine	24 ± 0.9	20 ± 0.5
15	Eucaliptol (GC/MS)	3 ± 0.1	14 ± 0.3

Abrevieri: Proba GAM = extract apos, locul de colectare a probei din Macea; Proba GAVD = extract apos, locul de colectare a probei din Vatra Dornei; <QL = compus sub limita de cuantificare; valorile reprezintă media aritmetică ± deviația standard a trei măsurători independente ale injecțiilor replicate din același extract.



Graf. 6.2. Analiza LC/MS a extractului apos obținut din plante integrale de *Geranium robertianum* L. aparținând celor două populații luate în studiu - din Macea (GAM), respectiv din Vatra Dornei (GAVD).

6.5. Analiza comparativă a conținutului de polifenoli din extractele de *Geranium robertianum* L. în contextul factorilor de mediu

În cazul speciei *Geranium robertianum* L., conform celor citate în subcapitolul 2.2., plantele prezintă o capacitate remarcabilă de adaptare la o paletă largă de condiții de mediu, fiind cunoscută variabilitatea lor morfo-anatomică și biochimică indusă de factorii de mediu până la posibilitatea existenței ecotipurilor. Literatura de specialitate consultată prezintă aspecte legate de variabilitatea și conservarea genetică a unor trăsături morfologice și puține date despre variabilitatea biochimică.

Având în vedere amplitudinea ecologică mare a speciei, în special față de factorii climatici, cerințele plantelor au fost satisfăcute atât în locațiile de recoltare din zona de câmpie, cât și din zona de munte. Conform celor discutate la punctul 2.2.4., specia este mai degrabă sensibilă la indicele de lumină, dar plantele din ambele locații de recoltare s-au situat la umbră permanentă, asigurată de coroana arborilor și a vegetației din jur, prezentând o biomasă bine dezvoltată. Indicele de pH corespunde întocmai cerințelor speciei în ambele situri de recoltare, în schimb indicele de azot poate fi considerat sub optim în zona de munte.

Locația de recoltare a plantelor de *G. robertianum* L. din zona de câmpie este situată la o altitudine joasă (99 m), încadrată într-o climă temperat-continentală cu influențe oceanice, în care în anul recoltării plantelor pentru analiza fitochimică (2021) temperatura medie anuală s-a situat între 11,7 – 12,2°C, în funcție de valorile emise de stațiile meteorologice din apropiere. Media lunii ianuarie a avut valori pozitive în anul 2021, între 1,1 – 2,2°C, spre deosebire de anii 2019-2020, în care a avut valori negative. Media lunii iulie, cuprinsă între 24,9 – 25,6°C în anul 2021, confirmă tendința generală de încălzire de pe parcursul dezvoltării ontogenetice a plantelor. Temperaturile maxime atinse în anul

recoltării au fost de 36,8 – 38,5°C, iar minimele de -12,8 și -12,4°C. În zona de recoltare din Macea, în anul 2021, precipitațiile cumulate au fost de 395,3 – 578 mm, iar numărul de zile fără îngheț cuprinse între 274 și 294. Solul din situl de recoltare s-a caracterizat prin pH slab acid spre neutru (6,72). cantitate foarte mare de fosfor asimilabil (224,99 ppm), mare de potasiu asimilabil (626 ppm) și indice mediu de azot total (2,56%).

În aceste condiții, au fost identificați 15 compuși bioactivi în extractul hidroalcoolic (14 polifenoli și monoterpena eucaliptol) și 13 în extractul apos (12 polifenoli și eucaliptol), în acesta din urmă luteolina și luteolin-7-O-glucozida fiind sub limita de cuantificare. În ambele tipuri de extracte se remarcă cvercetina ca și compus principal din punct de vedere cantitativ față de alți compuși din același extract. Toți polifenolii identificați sunt însă în cantități mult mai mari în extractul hidroalcoolic comparativ cu cel apos, iar diferența conținutului de eucaliptol este de numai 1 μg/g plantă uscată.

Locația de recoltare a plantelor de *G. robertianum* L. din zona de munte este situată la o altitudine de 863 m, încadrată într-o climă continentală-rece cu influențe scandinavo-baltice, în care în anul recoltării plantelor pentru analiza fitochimică (2021) temperatura medie anuală s-a situat între 0,7 – 9,8°C. În anul recoltării plantelor (2021) temperatura medie a lunii ianuarie a avut valori pozitive, între 7,7 și 0,2°C, iar media lunii iulie a fost între 12,2 și 22,3°C. În situl de recoltare temperatura maximă în anul 2021 nu a depășit 33,3°C, iar minimele nu au depășit pragul de -25,9, atingând și 15,4°C, în funcție de stația meteorologică din apropiere. Situl de recoltare a plantelor analizate din zona montană este marcat de precipitații abundente, valorile cumulate în anul 2021 fiind de 757,4 – 1528,1 mm. Numărul de zile fără îngheț la nivelul solului în anul 2021 a fost între 166 și 252. Condițiile edafice din situl de recoltare a plantelor au cuprins un indice de reacție slab acid (6,03), valori extrem de mici de fosfor asimilabil (0,55 ppm), medii de potasiu asimilabil (148 ppm) și mici de azot total (0,25%).

În contextul factorilor de mediu analizați din zona montană, s-a observat că, asemeni extractelor din zona de câmpie, extractul hidroalcoolic prezintă un număr mai mare de polifenoli (14) față de cel apos (7). Monoterpena eucaliptol continuă să fie prezentă și în extractele obținute din plantele din zona montană, în cantitate mai mare decât în cele obținute din plante din zona de câmpie (14-19 μg/g plantă uscată în funcție de tipul de extract, față de 2-3 μg/g plantă uscată). Polifenolii prezenți în extractul hidroalcoolic dar sub limita de cuantificare în infuzia preparată din plante din zona montană sunt acidul cafeic, acidul clorogenic, apigenina, hiperozida și rutozida, luteolin și luteolin-7-O-glucozida. Compusul principal continuă să fie cvercetina, dar în cantități mult mai mici decât în plantele din zona

de câmpie (mai puțin cu 10218 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată în extractele hidroalcoolice și mai puțin cu 345 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată în extractele apoase). În privința conținutului de kaempferol, diferențele sunt mici față de plantele de la câmpie în cadrul extractelor hidroalcoolice, aspect similar observat și pentru conținutul de acid cafeic, apigenină, luteolină și luteolin-7-O-glucozidă (diferențe de 1 până la 10 $\mu\text{g/g}$ plantă). Aceste diferențe sunt mai mari în cadrul extractelor apoase, în care kaempferolul este la mai puțin de jumătate din cantitatea observată la infuzia din plantele de la câmpie. Naringenina, un alt compus de referință în variabilitatea indusă de condițiile de mediu (conform literaturii de specialitate), este în cantități mai mici în extractele obținute din *G. robertianum* din zona montană. Geraniina, o elagitanină caracteristică, a fost observată în cantitate mai mare în extractul hidroalcoolic de la plantele din zona montană și în cantități de până la 6 ori mai mici în infuzii, indiferent de proveniență.

CAPITOLUL 7

CERCETĂRI MORFO-ANATOMICE ȘI FITOCHIMICE LA SPECIA *LEONURUS CARDIACA* L.

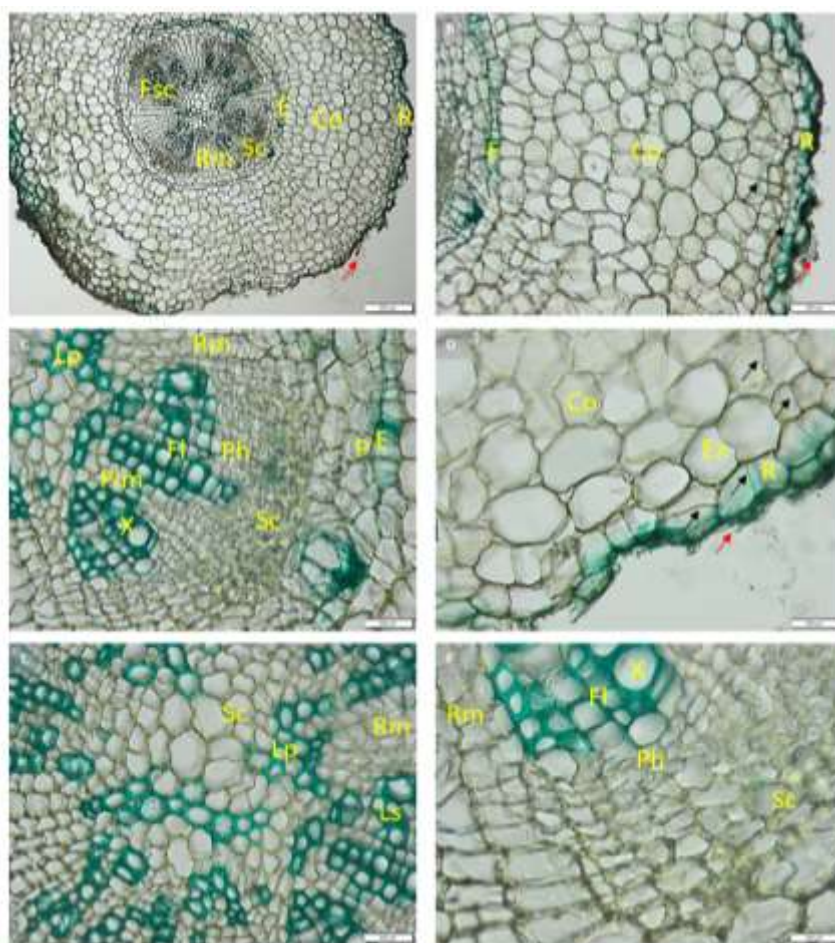
7.6. Considerații privind caracterele morfo-anatomice și compoziția fitochimică a organelor vegetative la specia *Leonurus cardiaca* L.

Rezultate de ordin morfo-anatomic obținute la specia *Leonurus cardiaca* L.:

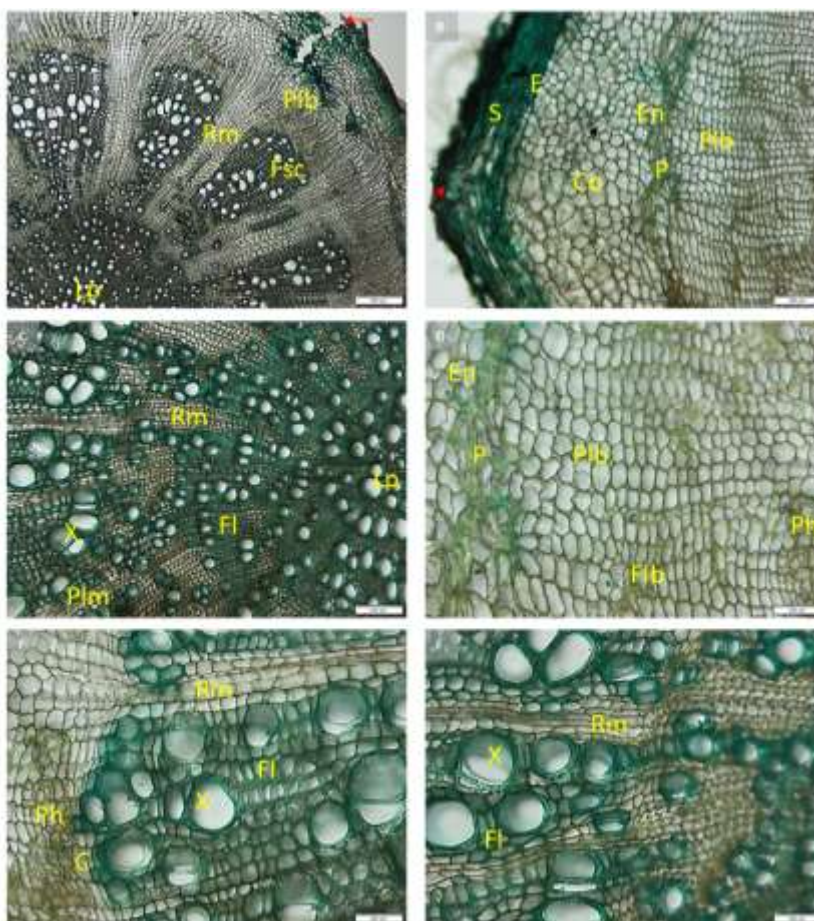
- În urma analizei imaginilor de microscopie optică și SEM au fost obținute o primă descriere a structurii anatomice a rădăcinii adventive, a rizomului și a pețiolului la această specie, respectiv prima caracterizare detaliată a tulpinii aeriene și limbului foliar, iar în urma analizei imaginilor TEM, o primă descriere a ultrastructurii organelor sale vegetative;
- Suprafața ambelor organe subterane este acoperită de mucilagii și cristale mici; rizomul prezintă suber, lenticele și un cilindru central mai dezvoltat, cu floem secundar și xilem organizate în straturi distincte; depozite intracelulare rare în parenchimul cortical și în straturile exterioare ale floemului secundar indică depozite de metaboliți secundari cu semnificație incertă în prezent* (Planșele 7.1.-7.3., 7.11.);
- Tulpina păstrează structura generală pe toată lungimea ei și se caracterizează prin: conturul pătratic-romboidal în secțiune transversală, 4 coaste mari cu monticuli plini de colenchim angular și cu peri tectori în vârf, unii inserați într-o cupă formată din două celule și cu protuberanțe pe suprafața peretelui celular, 4 coaste intermediare atenuate, cuticulă crenelată, mai multe tipuri de peri secretori (7) – sesili, scurt și lung pedicelați, cu glande uni, bi- și pluricelulare, mai frecvenți în partea superioară, lacună medulară, care dispare treptat spre vârf (Planșele 7.4.-7.6., 7.12.);
- Pe suprafața pețiolului se regăsesc perii tectori, dar cu vârful aplecat și perii secretori sesili și cu suport scurt, cu 1-2 până la 4 celule secretoare; conform imaginilor SEM, perii tectori sunt bicelulari, uniseriați, cu baza ușor conică și un vârf lung și ascuțit, cu delimitarea dintre cele două celule marcată de un nod bombat (Planșele 7.7.-7.8., 7.13.);
- Limbul foliar este hipostomatic, cu peri tectori unicelulari cu pereți verucoși, respectiv netezi și peri secretori mai frecvenți pe fața inferioară; conform imaginilor SEM, pe fața abaxială perii tectori sunt dispuși de-a lungul nervurilor, iar numărul și dimensiunea lor scade odată cu ordinul de ramificație, în timp ce perii secretori sunt prezenți între ochiurile rețelei nervurale și pe nervurile de ordin inferior; pe fața adaxială distribuția perilor

* Bota, V.B., Turcuș, V., Mihali, C. V., Ivănescu, C. L., Zamfirache, M.M., 2022c - A first report on the anatomical structure of underground organs of *Leonurus cardiaca* L. species, Studia Universitatis „Vasile Goldiș” Seria Științele Vieții, 32(3): 99-106 (publicat la data 25.04.2025).

— tectori și secretori este inversă (perii secretori de-a lungul nervurilor și perii tectori în ochiurile rețelei și pe nervurile de ordin inferior) (Planșele 7.9.-7.10., 7.14.-7.15.);



Planșa 7.1. A-F Secțiune transversală prin rădăcina adventivă la *Leonurus cardiaca* L. R – rizodermă, Co – cortex, E – endodermă, Sc – sclerenchim, Rm – raze medulare, Fsc – fascicul conductor libero-lemnos, Ex – exodermă, P – periciclu, Ph – floem, X – xilem, Fl – fibre lemnoase, Plm – parenchim lemnos, Lp – lemn primar, Ls – lemn secundar, săgeată neagră – pereți de diviziune, săgeată roșie – mucilagii.



Planșa 7.2. A-F Secțiune transversală prin rizom la *Leonurus cardiaca* L. E – epidermă, S – suber, Co – cortex, En – endodermă, P – periciclu sclerenchimatic, Plb – parenchim liberian, Flb – fibre liberiene, Rm – raze medulare, Fsc – fascicul conducător libero-lemnos, Lp – lemn primar, X – xilem, Fl – fibre lemnoase, Plm – parenchim lemnos, Ph – floem, C – cambiu, săgeată neagră – cristale de oxalat de calciu, săgeată roșie – lenticelă.

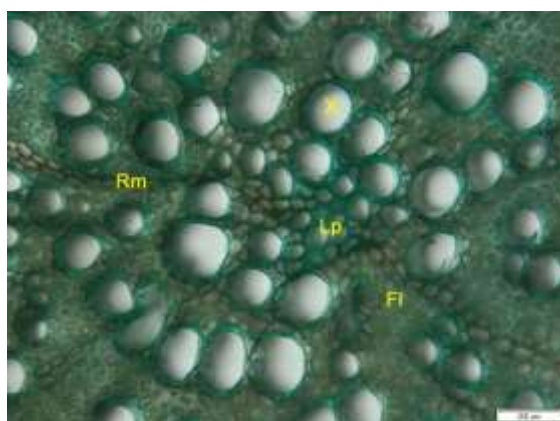
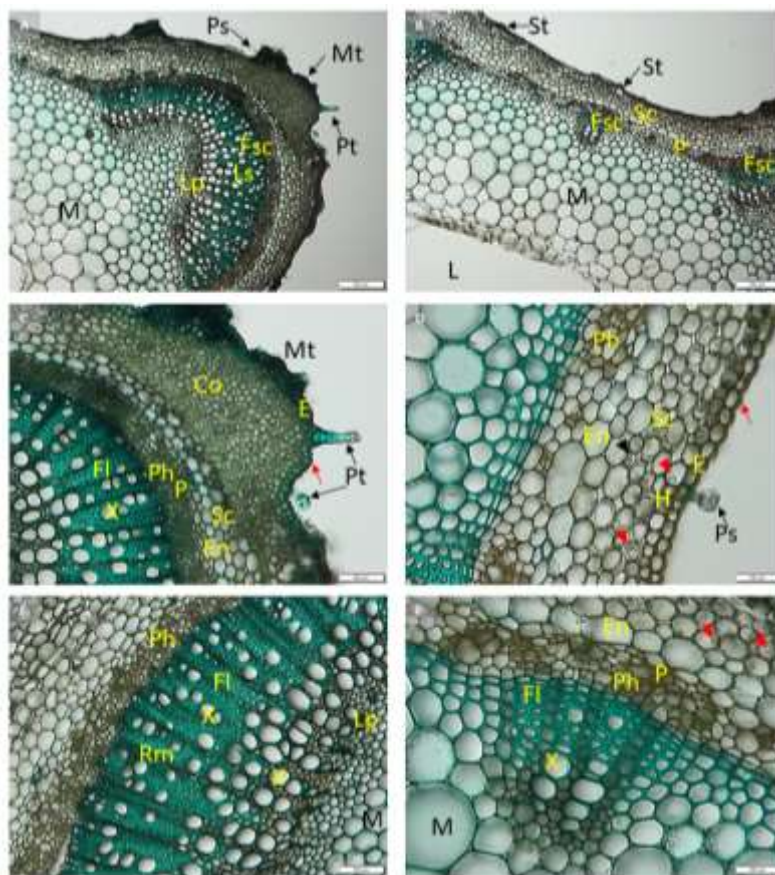
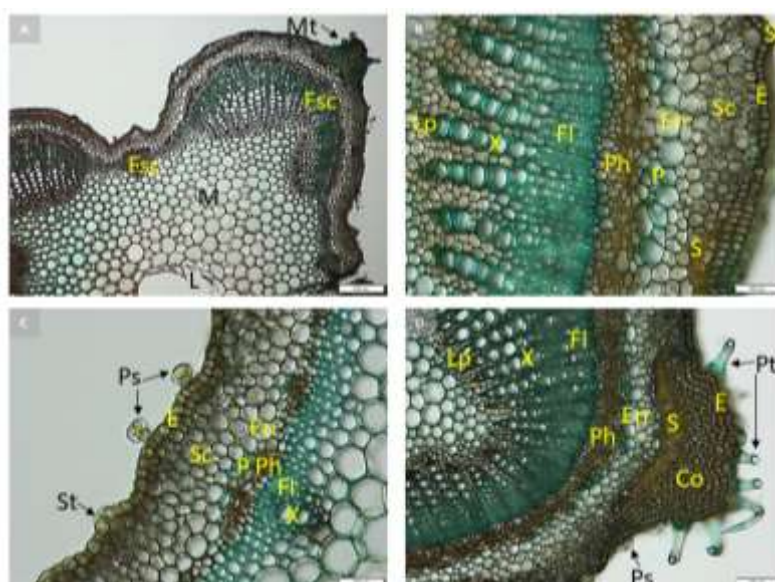


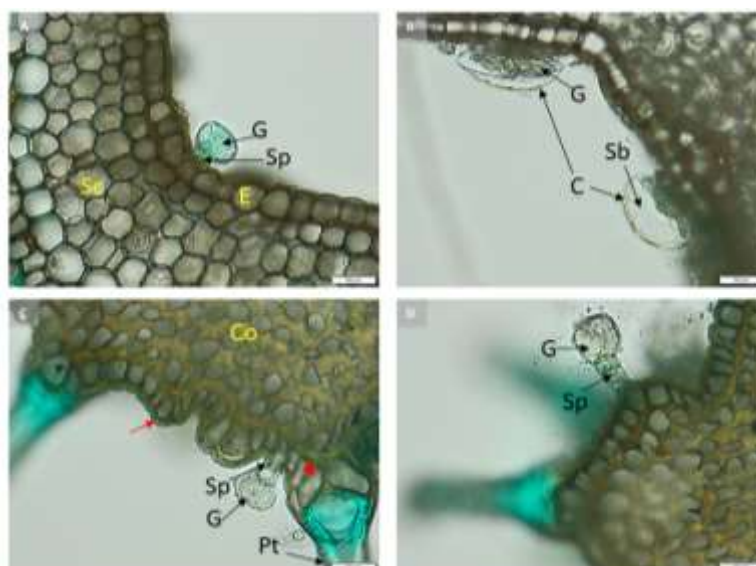
Fig.7.3. Secțiune transversală prin rizom la *Leonurus cardiaca* L., zona centrală. Lp – lemn primar, Fl – fibre lemnoase, Rm – rază medulară.



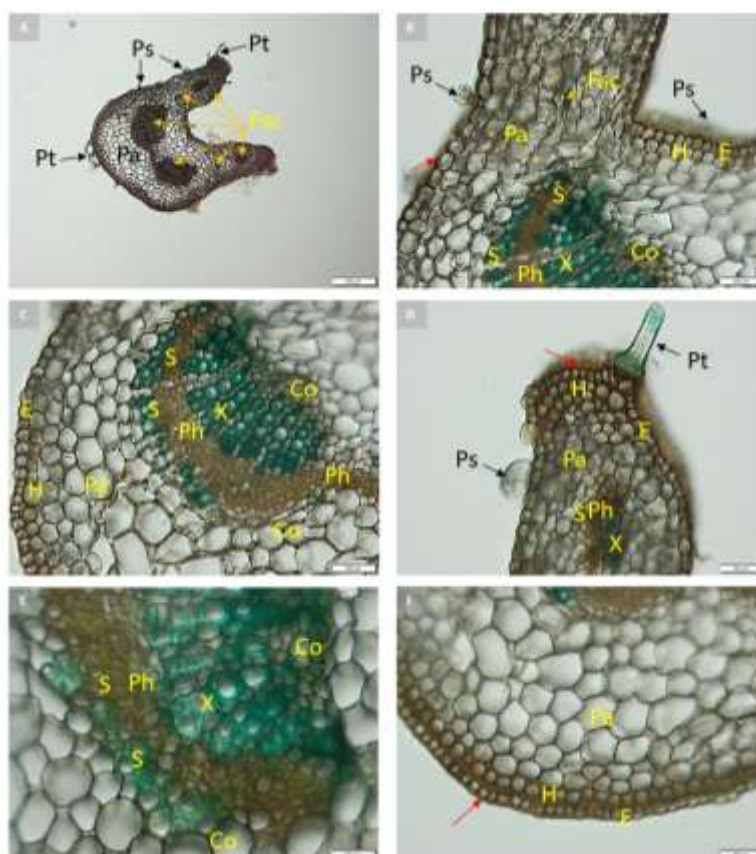
Planșa 7.4. A-F Secțiune transversală prin partea inferioară a tulpinii la *Leonurus cardiaca* L. Mt – monticul, Ps – păr secretor, Pt – păr tector, Fsc – fascicul conducător libero-lemnos, Ls – lemn secundar, Lp – lemn primar, M – măduvă, St – stomată, Sc – scoarță, P – periciclu sclerenchimatic, L – lacună aeriferă, E – epidermă, Co – colenchim angular, En – endodermă, Ph – floem, X – xilem, Fl – fibre lemnoase, Rm – rază medulară, H – hipodermă, săgeată roșie – cuticulă crenelată, cap săgeată neagră – rafide, cap săgeată roșie – incluziuni.



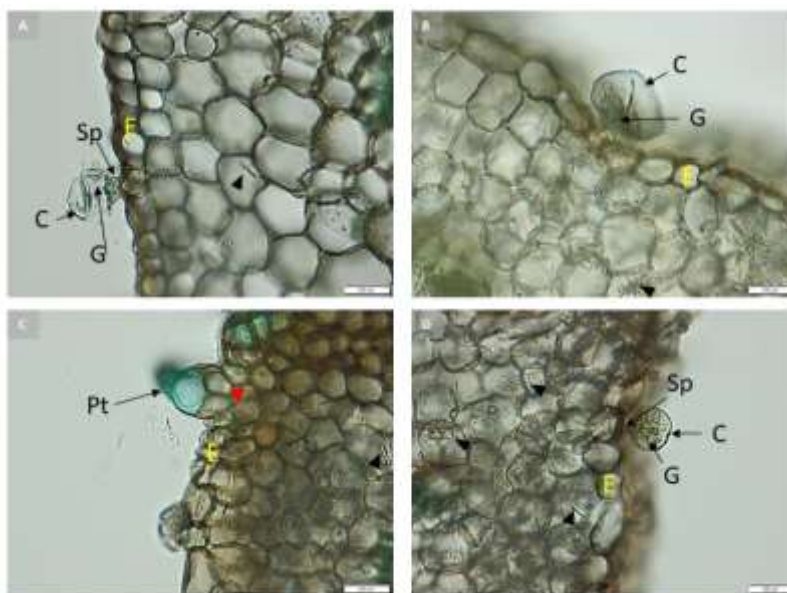
Planșa 7.5. A-D Secțiune transversală prin partea superioară a tulpinii la *Leonurus cardiaca* L. Mt – monticul, Fsc – fascicul conducător libero-lemnos, M – măduvă, L – lacună aeriferă, St – stomată, E – epidermă, Sc – scoarță, En – endodermă, P – periciclu, Ph – floem, Fl – fibre lemnoase, X – xilem, Lp – lemn primar, Co – colenchim angular, S – sclerenchim, Pt – păr tector, Ps – păr secretor.



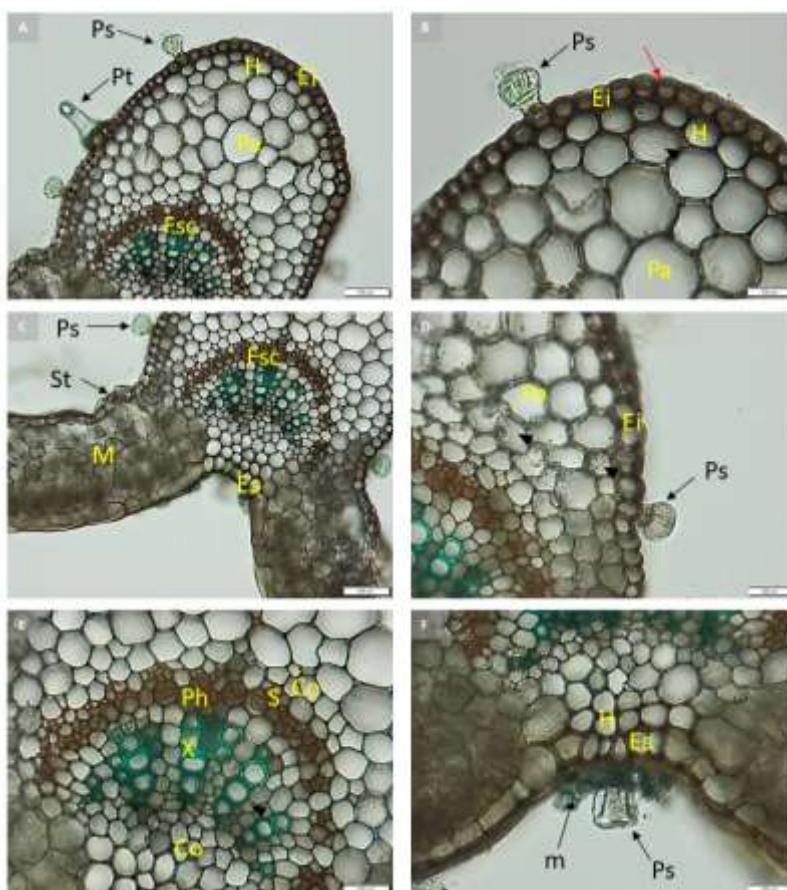
Planșa 7.6. A-D Secțiune transversală prin partea superioară a tulpinii la *Leonurus cardiaca* L. – detalii peri secretori (A-D) și peri tectori (C). G – glande secretoare, Sp – celule suport, C – cuticulă, Sb – spațiu subcuticular de depozitare, Pt – păr tector, E – epidermă, Sc – scoarță, Co – colenchim angular, săgeată roșie – cuticulă crenelată, cap săgeată roșie – celule bazale în formă de cupă de la baza părului tector.



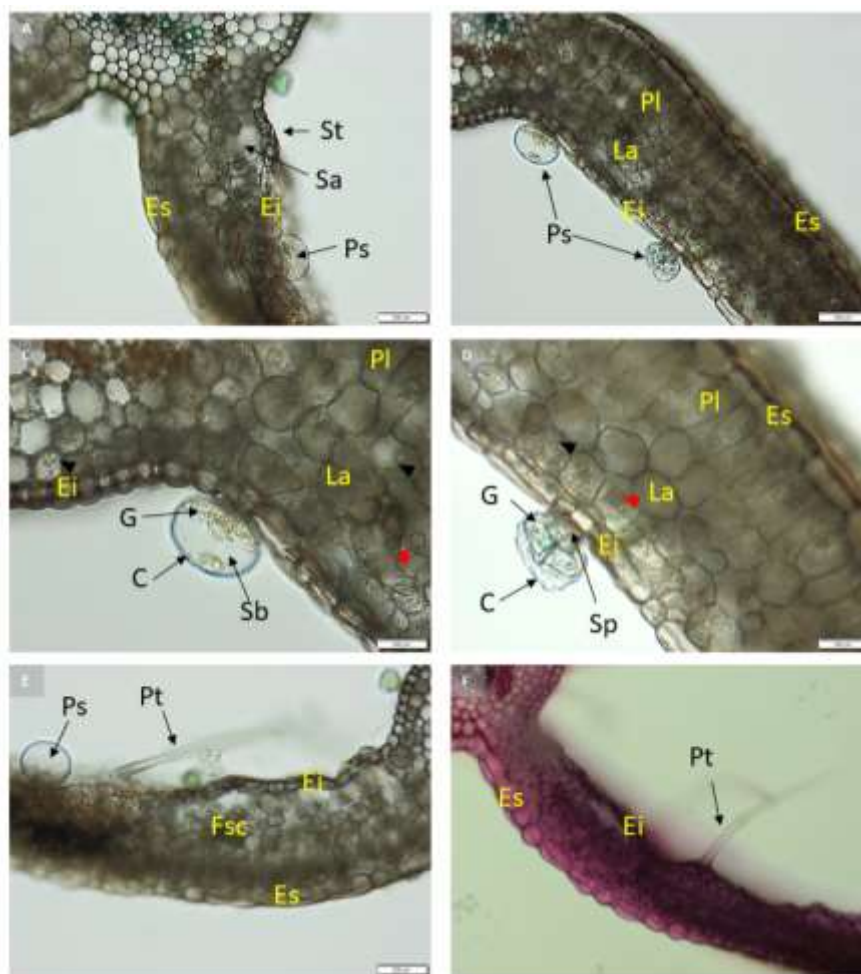
Planșa 7.7. A-F Secțiune transversală prin pețiol la *Leonurus cardiaca* L.; A – aspect general; B – sector de la baza crestei laterale și din șanțul adaxial; C – detaliu din partea centrală; D – detaliu din vârful crestei laterale; E – detaliu fascicul conducător central; F – sector din partea abaxială. Pa – parenchim fundamental, Fsc – fascicul conducător libero-lemnos, E – epidermă, H – hipodermă colenchimatizată, S – sclerenchim, Co – colenchim, Ph – floem, X – xilem, Pt – păr tector, Ps – păr secretor, săgeată roșie – cuticulă.



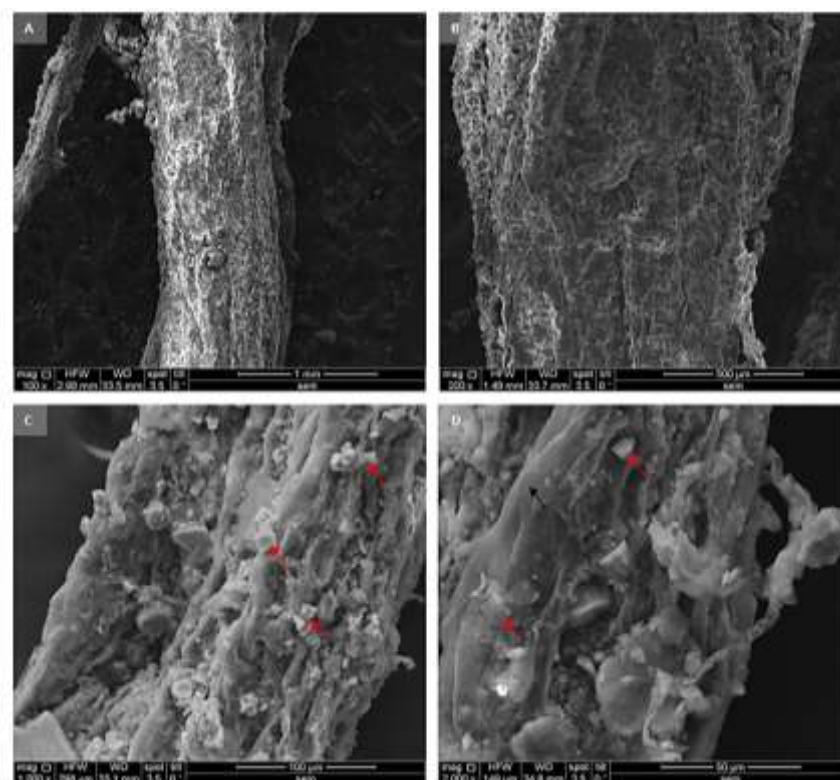
Planșa 7.8. A-D Secțiune transversală prin pețiol, la *Leonurus cardiaca* L., detalii ale perilor. E – epidermă, Pt – păr tector, Sp – celule suport, G – glande secretoare, C – cuticulă, cap săgeată neagră – cristale, cap săgeată roșie – celule bazale în formă de cupă de la baza părului tector.



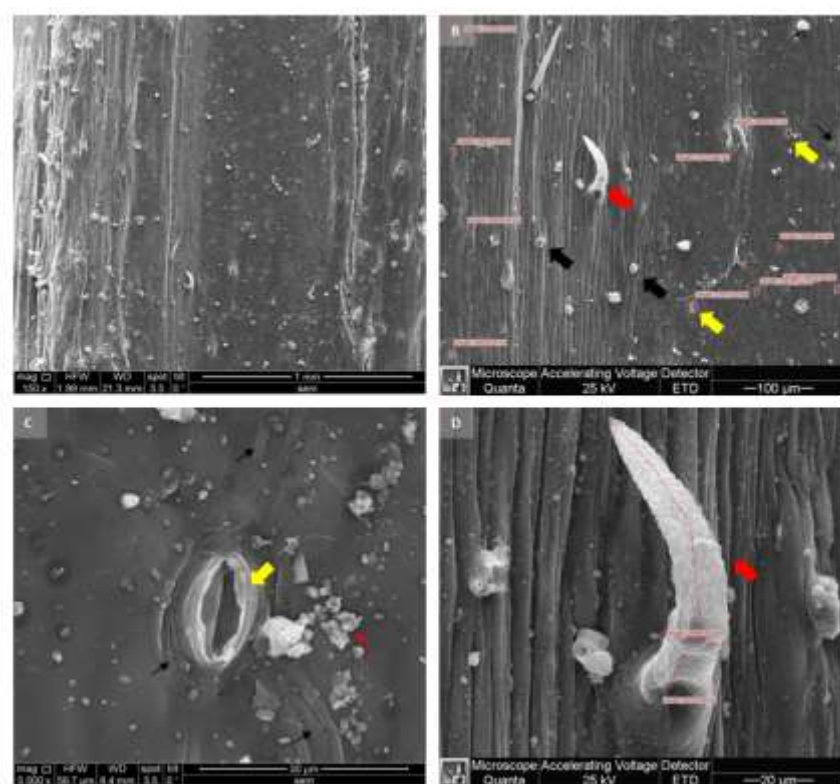
Planșa 7.9. A-F Secțiune transversală prin limbul foliar la *Leonurus cardiaca* L., aspecte ale nervurii mediane. Ps – păr secretor, Pt – păr tector, Fsc – fascicul conductor libero-lemnos, Ei – epidermă inferioară, Es – epidermă superioară, H – hipodermă colenchimatizată, Pa – parenchim fundamental, S – sclerenchim, Ph – floem, X – xilem, Co – colenchim, m – mucilagii, săgeată roșie – cuticulă crenelată, cap de săgeată neagră – cristale.



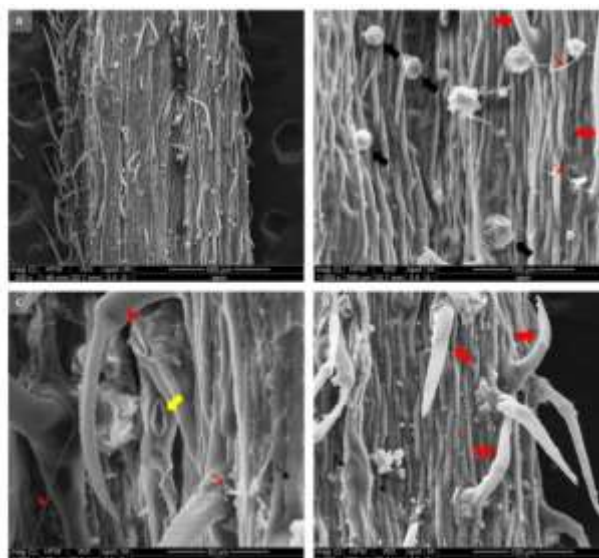
Planșa 7.10. A-F Secțiune transversală prin limbul foliar la *Leonurus cardiaca* L., aspecte ale mezofilului și detalii ale perilor. Ei – epidermă inferioară, Es – epidermă superioară, Ps – păr secretor, Pt – păr tector, Fsc – fascicul conducător libero-lemnos, G – glande secretoare, c – cuticulă, Sb – spațiu subcuticular, Sp – celule suport, St – stomată, Sa – cameră substomatică, cap săgeată neagră – cristale, cap săgeată roșie – formațiuni sferice.



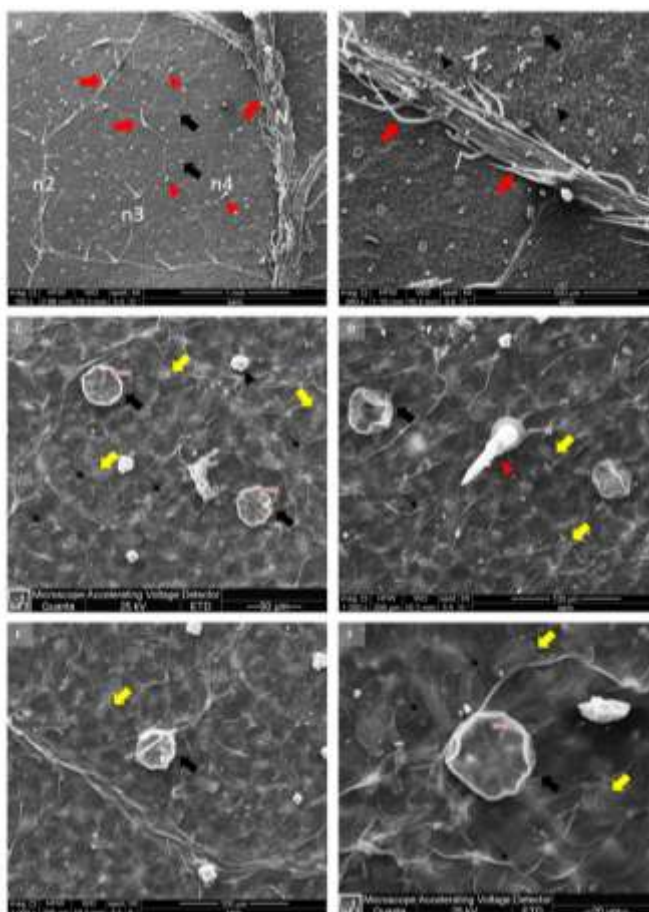
Planșa 7.11. A-B Microtopografia de suprafață a rizomului la *Leonurus cardiaca* L.; C-D – detalii de suprafață. Săgeată neagră – aspectul neted al suprafeței epidermei, săgeată roșie – cristale.



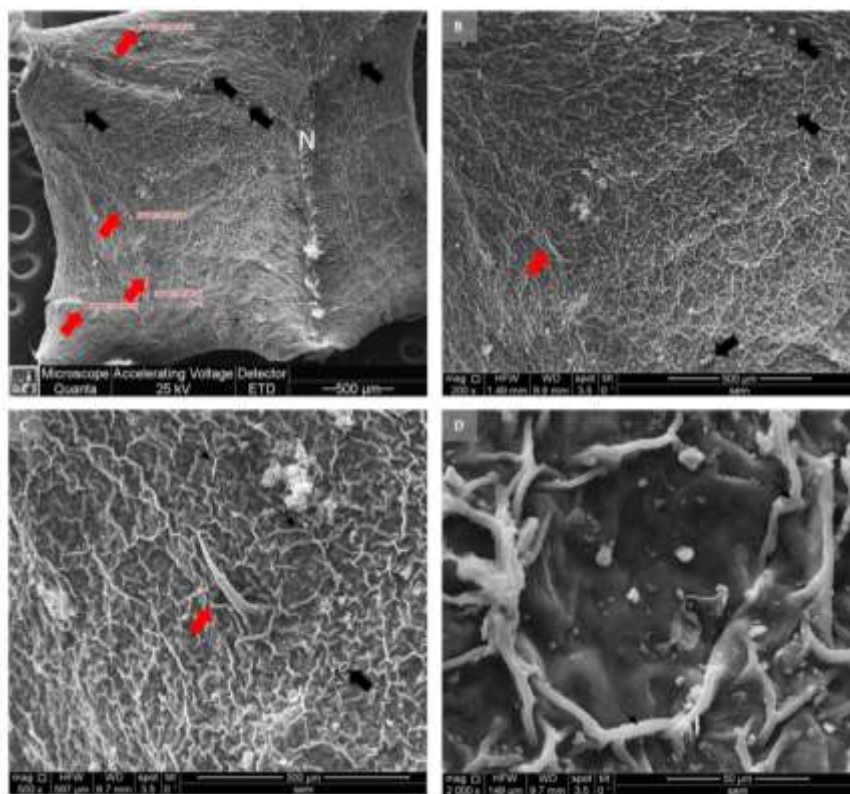
Planșa 7.12. A-B Microtopografia de suprafață a tulpinii la *Leonurus cardiaca* L.; C – detaliu stomată; D – detaliu păr tector. Săgeată galbenă – stomată, săgeată roșie (groasă) – păr tector, săgeată neagră (groasă) – păr secretor, săgeată neagră – cute/striații cuticulare în jurul stomatei.



Planșa 7.13. A – Aspect general al microtopografiei de suprafață a pețiolului la *Leonurus cardiaca* L.; B-D – detalii ale epidermei cu peri tectori și secretori. Săgeată galbenă – stomată, săgeată roșie (groasă) – păr tector, săgeată neagră (groasă) – păr secretor, săgeată roșie – hife miceliene, săgeată neagră – striatii cuticulare, cap de săgeată roșie – protuberanțe pe suprafața părului tector.

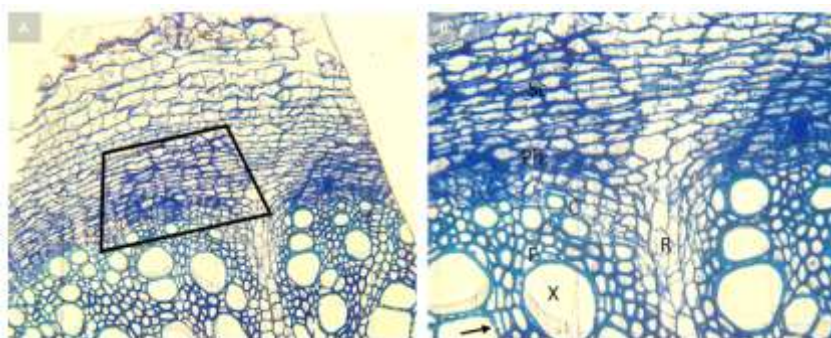


Planșa 7.14. A-B Microtopografia epidermei inferioare a limbului foliar la *Leonurus cardiaca* L.; C-F – detalii ale epidermei, perilor tectori, secretori și ale stomatelor. N – nervură mediană, n2- nervură de gradul 2, n3 – nervură de gradul 3, n4 – nervură de gradul 4, cap de săgeată roșie – păr tector mic, săgeată roșie – păr tector mare, săgeată neagră (groasă) – păr secretor cu glande multiple, cap de săgeată neagră – păr secretor uniglandular, săgeată galbenă – stomată, săgeată neagră – striatii cuticulare.

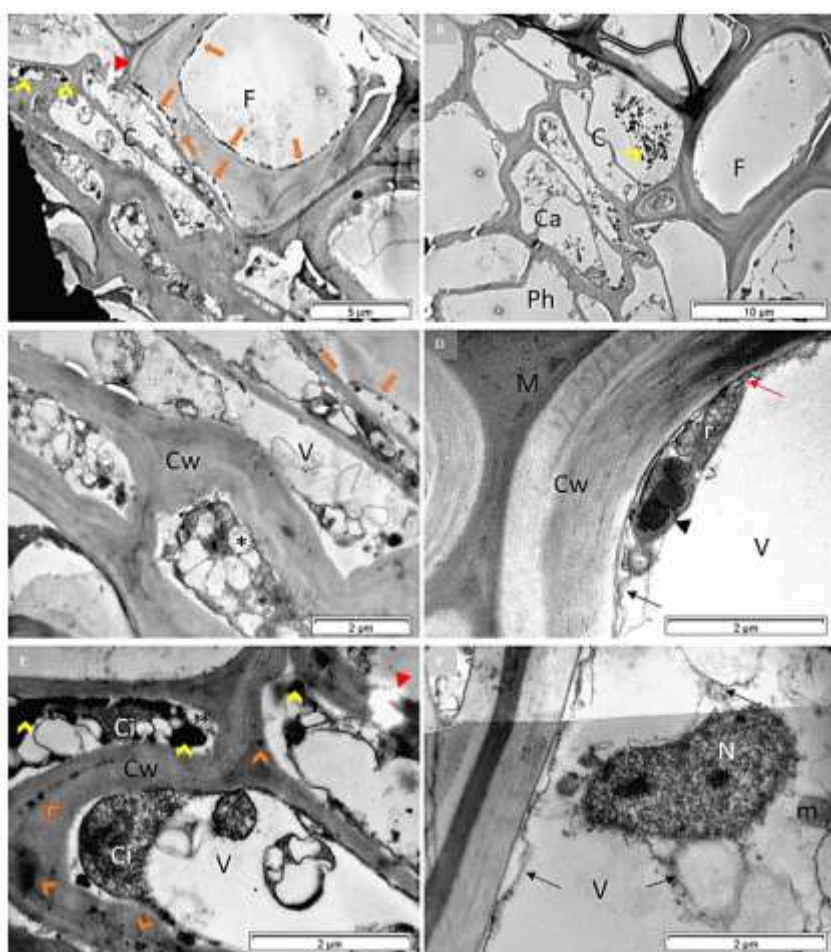


Planșa 7.15. A-C Microtopografia epidermei superioare a limbului foliar la *Leonurus cardiaca* L.; D – detalii ale cutelor și striățiilor cuticulare. N – nervură mediană, săgeată roșie – păr tector, săgeată neagră (groasă) – păr secretor, săgeată neagră – cute.

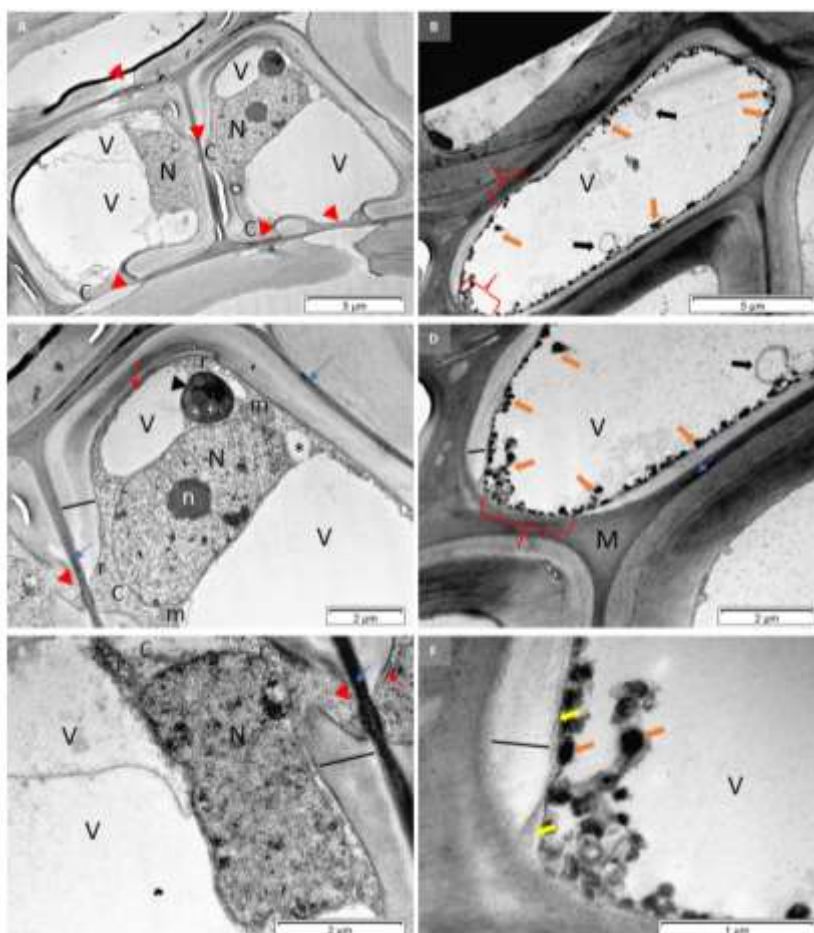
— La nivelul rizomului, imaginile TEM prezintă aspecte din ultrastructura cambiului în curs de diferențiere în liber și lemn secundar, depozite electron-dense la nivelul simplastului și apoplastului, diverse tipuri de punctuațiuni și îngroșări ale pereților celulari și indică prezența unor compuși polifenolici în fibrele lemnoase (Planșele 7.16.-7.18.). În tulpina aeriană au fost observate depozite lipidice în celulele corticale și depozite aciculare în celulele liberului secundar; spațiile din parenchimul lemnos, între peretele primar și lamela mediană sugerează un proces de transport pe calea apoplastului (Planșele 7.20.-7.23.); aspecte deosebite identificate în celulele corticale includ corpurile multivezikulare și multilamelare implicate în căi secretorii și procese de autofagie (Planșa 7.27.). Analiza ultrastructurală a pețiolului evidențiază cuticula și procesele implicate în formarea acesteia, diverse depozite intravacuolare cu aspect cristalin, granular și fluid în fasciculele conducătoare libero-lemnoase și teaca sclerenchimatică periliberiană, formațiuni veziculare în spațiul intercelular dintre țesutul liberian și periliberian (Planșele 7.28.-7.29., 7.33.-7.34.). Analiza ultrastructurii limbului foliar indică procese de sinteză și stocare a unor metaboliți, în special de natură lipidică și polifenolică, în celulele parenchimului lacunar din jurul vaselor conducătoare (Planșele 7.35.-7.36., 7.38.).



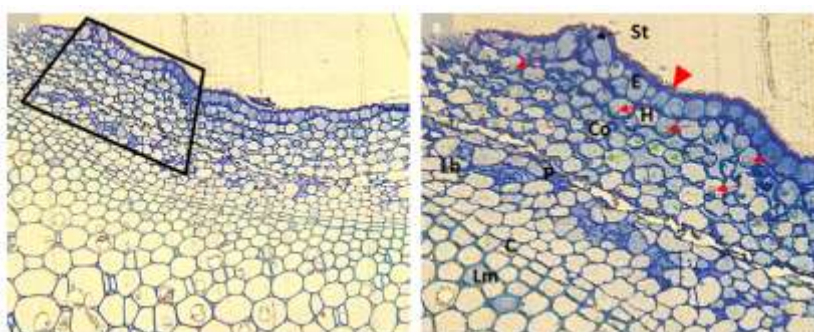
Planșa 7.16. A – Secțiune transversală semifină prin rizom la *Leonurus cardiaca* L. cu zona de analiză pentru TEM (în trapez) 20X; B – detaliu din cilindrul central cu raze medulare și sector de fascicul conducător libero-lemnos 40X. Sc – sclerenchim (fibre liberiene), Ph – floem, C – cambiu, F – fibre lemnoase, X – xilem, R – rază medulară.



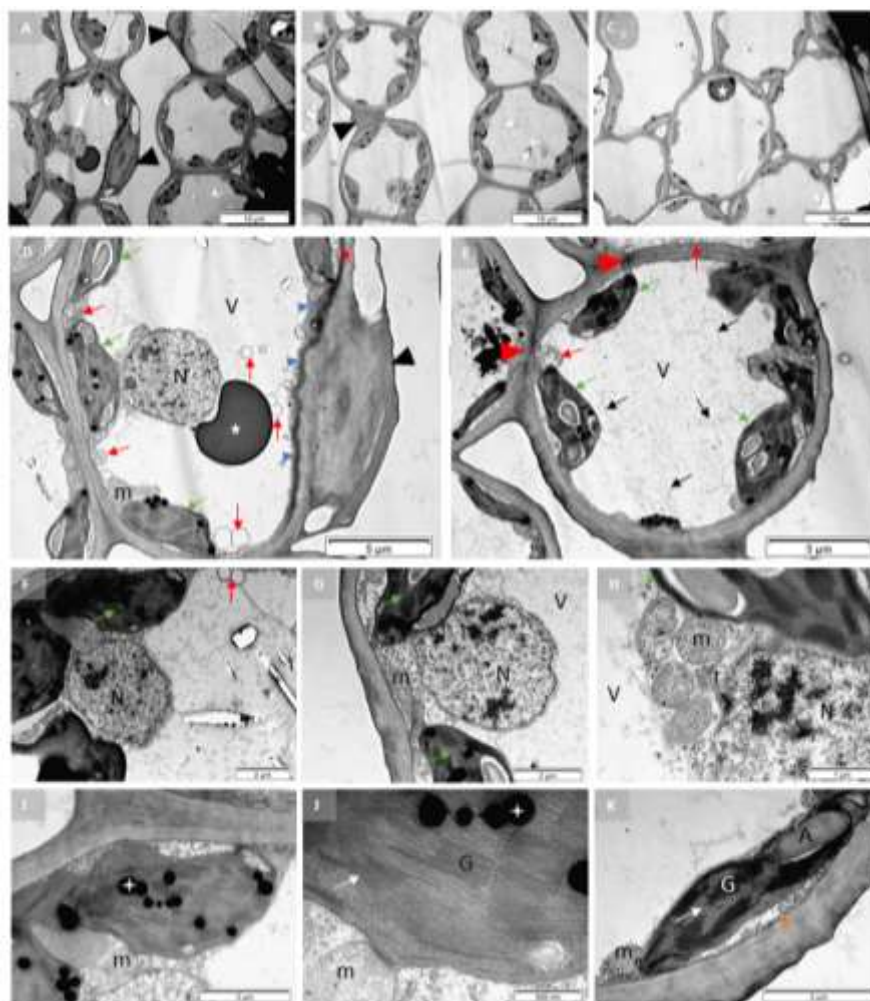
Planșa 7.17. A-F Aspecte din ultrastructura liberului secundar, a cambiumului și a fibrelor lemnoase ale rizomului la *Leonurus cardiaca* L. F – fibră lemnoasă, C – cambiu, Ca – celule anexe, Ph – floem, Cw – perete celular, V – vacuolă, M – meat, Ci – citoplasmă, N – nucleu, m – mitocondrie, r – reticul endoplasmatic neted, cap săgeată roșie – punctuațiune, săgeată chevron galbenă - depozite electron-dense intracelulare, săgeată chevron portocalie – depozite electron-dense la nivelul apoplastului, săgeată portocalie – depozite electron-dense la marginea peretelui celular, săgeată roșie – reticul endoplasmatic rugos, săgeată neagră – filament de citoplasmă, asterisc – veziculă cu mucilagii, cap săgeată neagră – formațiune cu depozite osmofilice.



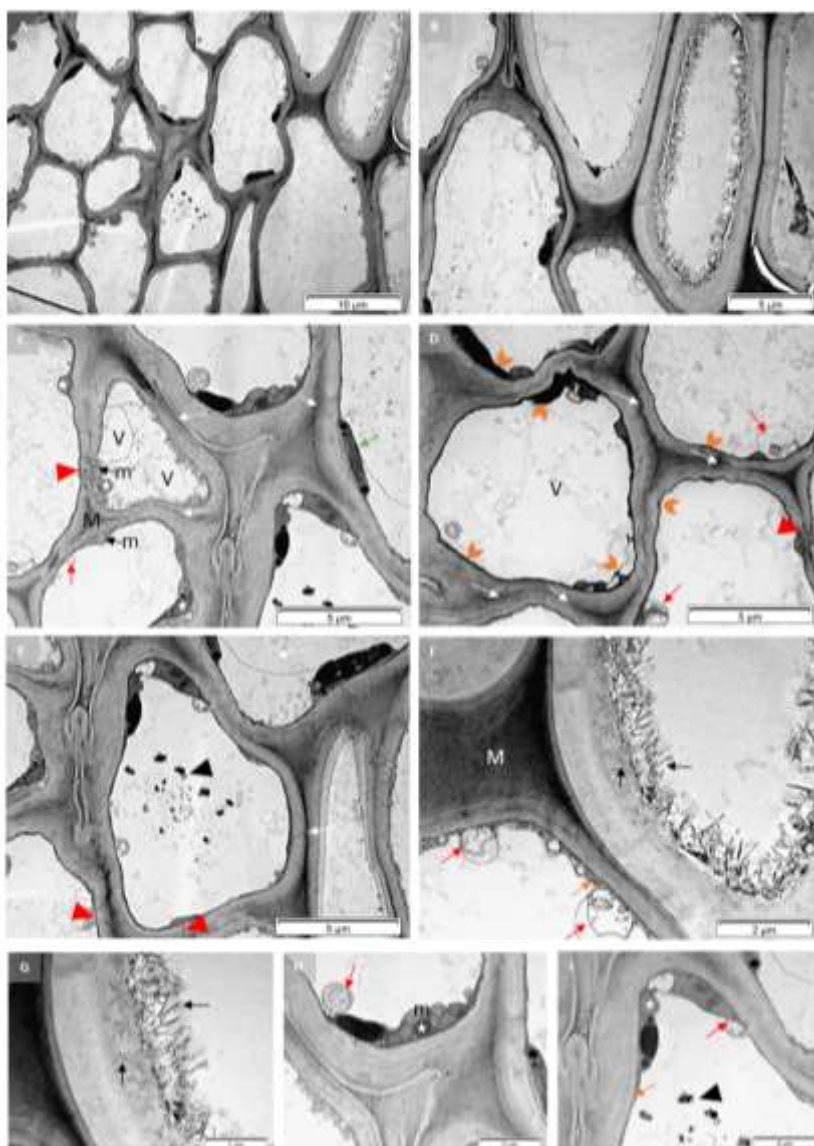
Planșa 7.18. A,C,E Aspecte din ultrastructura unor fibre lemnoase tinere ale rizomului la *Leonurus cardiaca* L., în diferite stadii de diferențiere; B,D,F – fibre lemnoase mature. N – nucleu, n – nucleol, C – citoplasmă, V – vacuolă, m – mitocondrie, r – reticul endoplasmatic neted, M – meat, cap săgeată roșie – punctuațiune, acoladă – porțiuni neîngroșate din peretele celular, săgeată neagră – vezicule intravacuolare, săgeată portocalie – depozite electron-dense de la nivelul simplastului, săgeată galbenă – membrană celulară, săgeată roșie – reticul endoplasmatic rugos, săgeată albastră – lamelă mediană, cap săgeată neagră – formațiune cu depozite osmofilice și picături lipidice (steluța albă), asterisc – veziculă cu mucilagii, bară neagră – perete secundar.



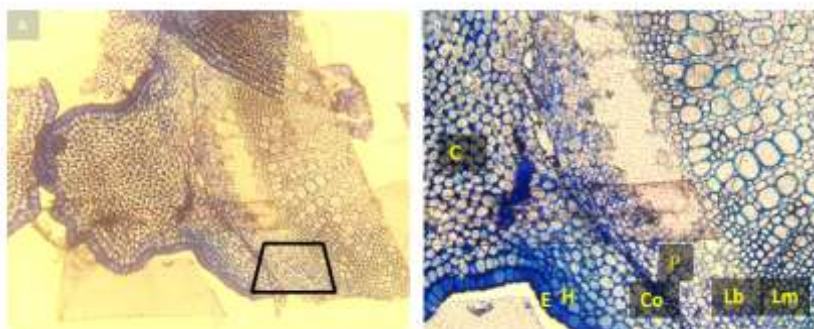
Planșa 7.20. A – Secțiune transversală semifină prin tulpină la *Leonurus cardiaca* L. cu zona de analiză pentru TEM (în trapez), 10X; B – detaliu din zona marginală, între creste, 40X. St – stomată, E – epidermă, H – hipodermă, Co – cortex, P – periclu, Lb – liber, C – cambiu, Lm – lemn, săgeată verde – cloroplaste, săgeată roșie – depozite translucide, cap săgeată roșie – cuticulă crenelată.



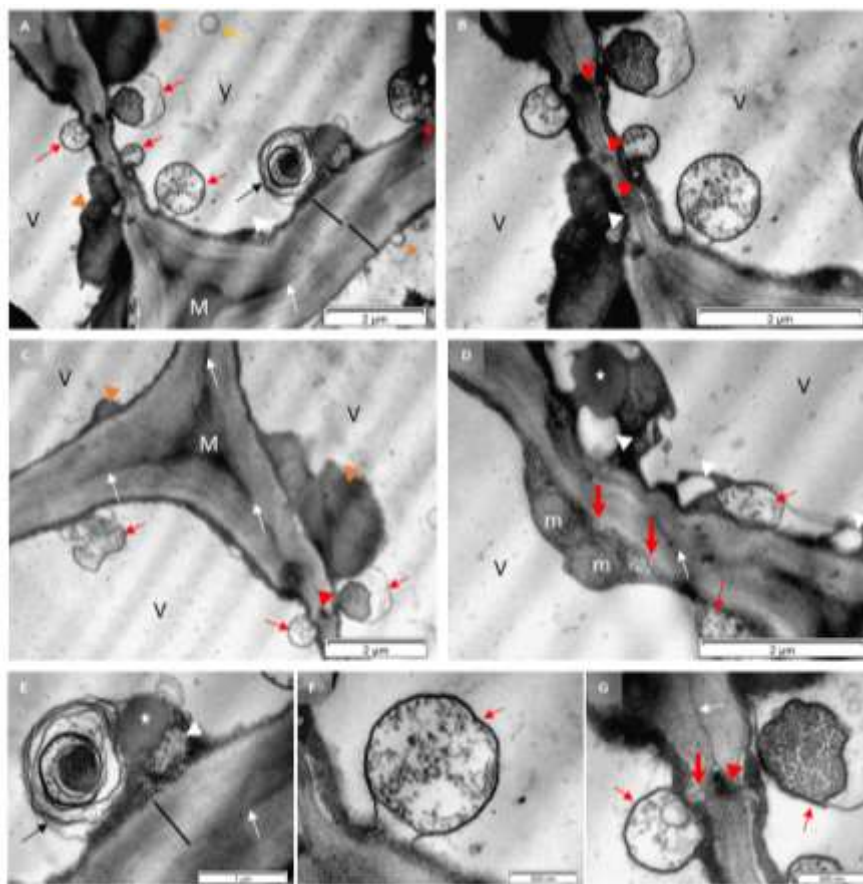
Planșa 7.21. A-C – Aspecte de ansamblu din ultrastructura scoarței la tulpina de *Leonurus cardiaca* L.; D-H – detalii din ultrastructura celulelor corticale; I-K – detalii ale cloroplastelor din celulele corticale. N – nucleu, m – mitocondrie, V – vacuolă, G – grana, A – granulă de amidon, săgeată verde – cloroplast, săgeată albă – tilacoide, săgeată roșie – vezicule, cap de săgeată roșie – punctuațiuni, cap de săgeată neagră – excrescențe la nivelul peretelui celular, cap săgeată albastră – regiune difuză a citoplasmei, săgeată portocalie – reticul endoplasmatic, săgeată neagră – formațiuni filiforme intravacuolare, steluță albă – picătură lipidică, steluță albă (4 colțuri) – plastoglobul.



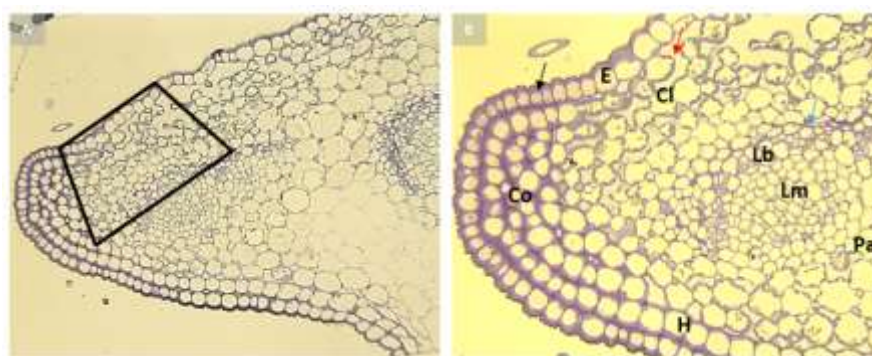
Planșa 7.22. A-F – Aspecte din ultrastructura inelului de liber secundar al tulpinii la *Leonurus cardiaca* L.; C, D, E – detalii din figura A; F – detaliu din figura B; G-I – detalii surprinse la magnificații mai mari din figurile B/F, respectiv A/E. V – vacuolă, M – meat, m – mitocondrie, cap de săgeată roșie – punctuațiune, cap de săgeată neagră – depozite electron-dense intravacuolare, săgeată albă – lamela mediană, săgeată roșie – vezicule, săgeată neagră – depozite aciculare, săgeată portocalie – reticul endoplasmatic, săgeată verde – cloroplast, săgeată chevron – citoplasmă electron-densă, steluță albă – picătură lipidică.



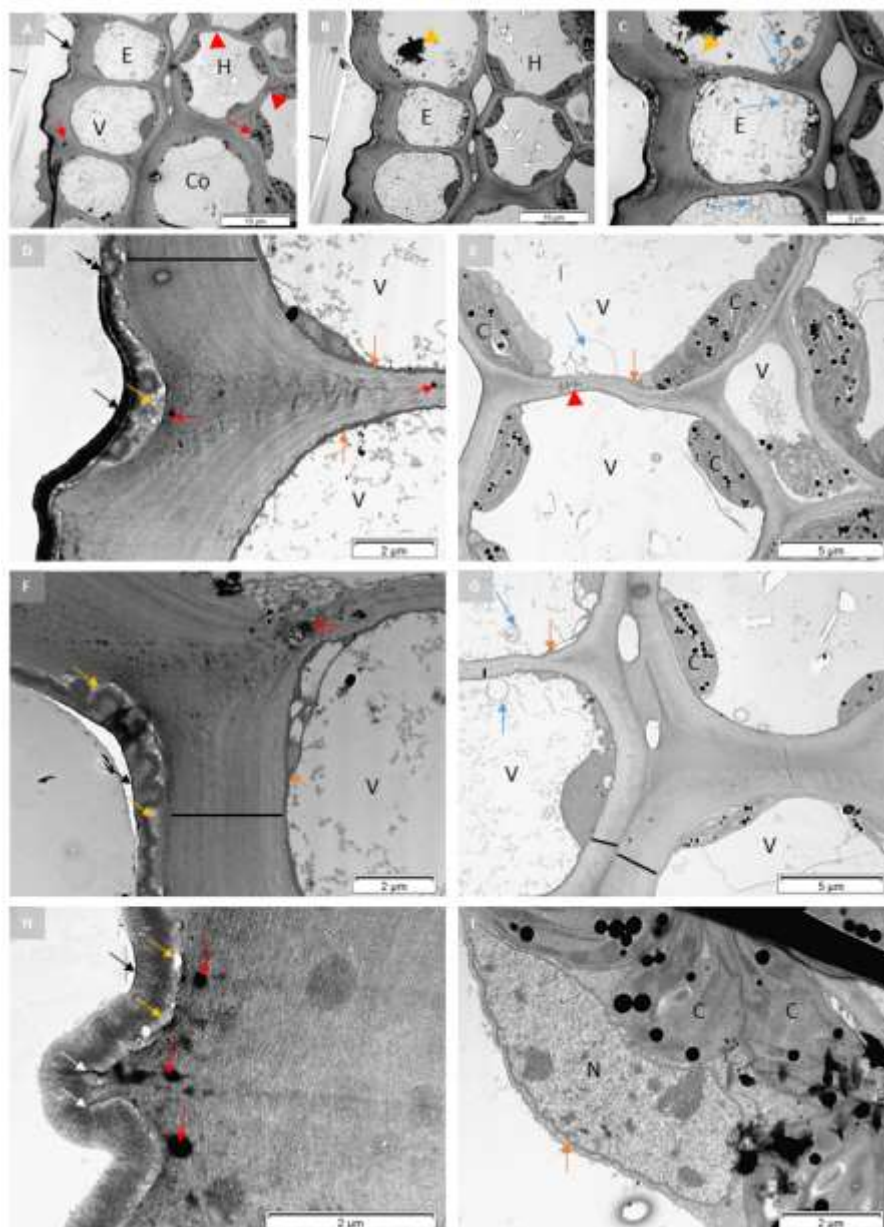
Planșa 7.23. A – Secțiune transversală semifină prin tulpină la *Leonurus cardiaca* L., cu zona de analiză pentru TEM (în trapez), 10X; B – detaliu din zona adiacentă unui monticul, 20X. C – colenchim angular, E – epidermă, H – hipodermă, Co – cortex, P – periciclu, Lb – liber, Lm – lemn.



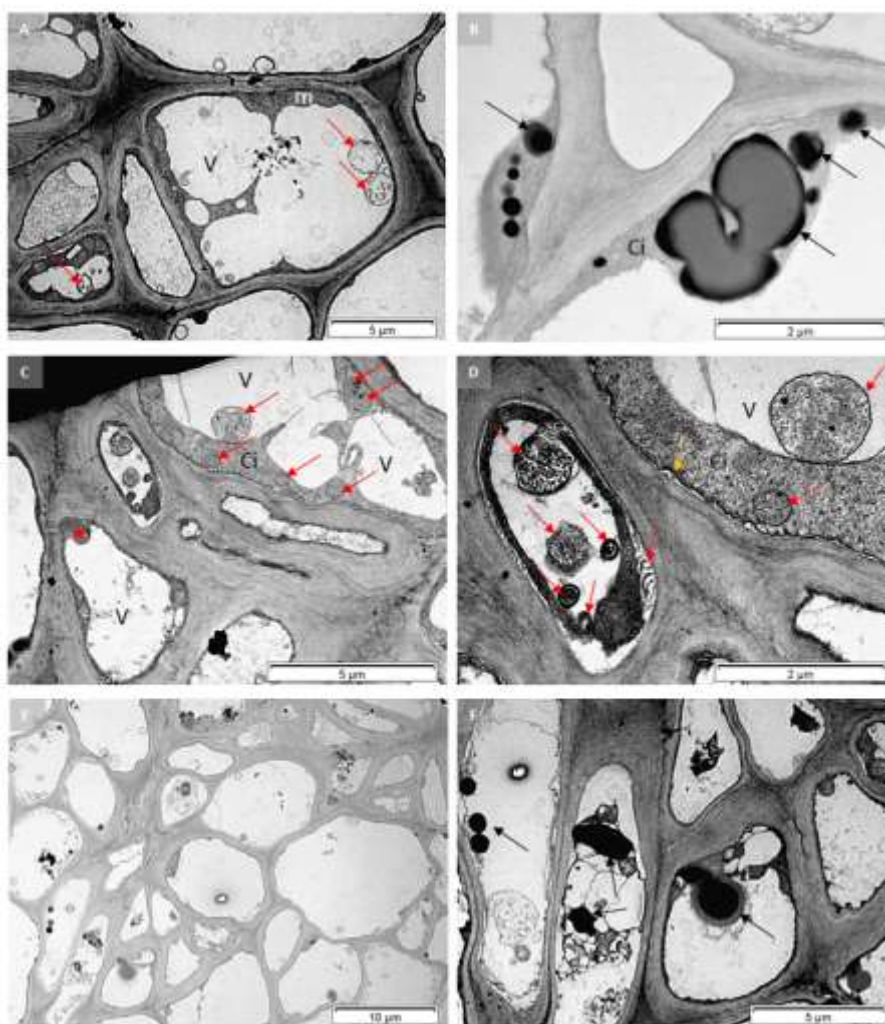
Planșa 7.27. A, D – Corpuri multivezikulare și corp paramural în celule corticale ale tulpinii la *Leonurus cardiaca* L.; B, E-G – detalii mărite ale imaginii din A; C – continuare a zonei superioare din A, detaliată în G. V – vacuolă, M – meat, m – mitocondrie, cap de săgeată roșie – plasmodesme, cap de săgeată albă – veziculă intracitoplasmatică, cap săgeată portocalie – formațiune electron-densă intracelulară, bară neagră – perete celular, săgeată albă – lamelă mediană, steluță albă – picătură lipidică, săgeată neagră – corp multilamelar, săgeată roșie – corp multivezicular, săgeată roșie groasă – vezicule în contact cu peretele celular, săgeată galbenă – veziculă intravacuolară, săgeată portocalie – veziculă în formare.



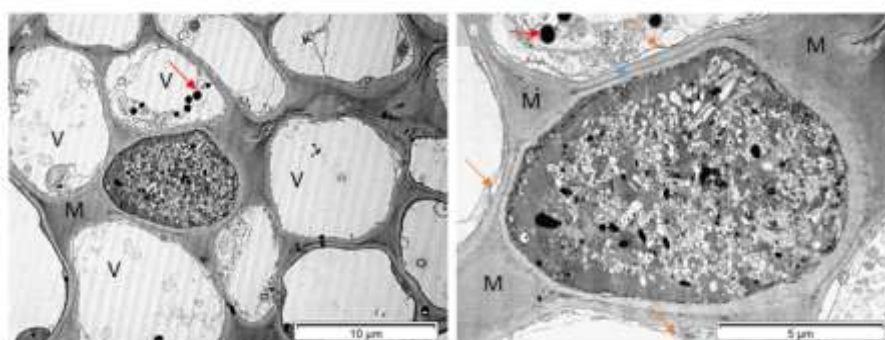
Planșa 7.28. A – Secțiune transversală semifină prin pețiol la *Leonurus cardiaca* L. cu zona de analiză pentru TEM (în trapez), 20X; B – detaliu zonă marginală, 40X. E – epidermă, H – hipodermă, Co – colenchim, Cl – clenchim, Lb – liber, Lm – lemn, Pa – parenchim, săgeată neagră – cuticulă crenelată.



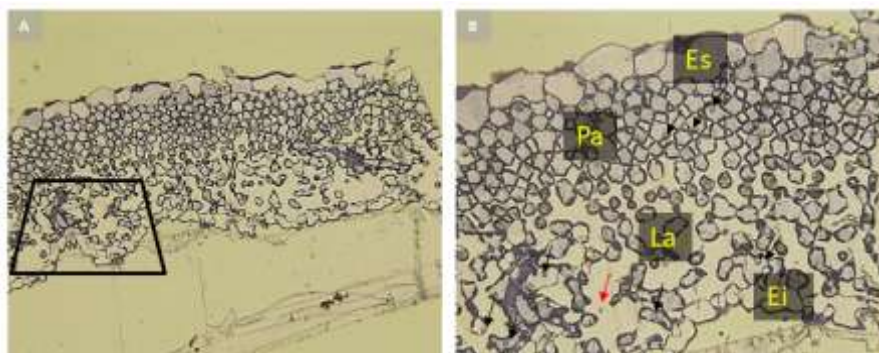
Planșa 7.29. A-I – Aspecte din ultrastructura epidermei și hipodermei din zona adiacentă crestei colenchimatice a pețiolului la *Leonurus cardiaca* L.; D, F, H – detalii din ultrastructura cuticulei. E – epidermă, H – hipodermă, V – vacuolă, Co – colenchim, C – cloroplast, N – nucleu, cap de săgeată roșie – plasmodesme, bară neagră – perete celular, săgeată portocalie – citoplasmă, cap de săgeată galbenă – depozite electron-dense intravacuolare, săgeată albastră – vezicule, săgeată roșie – depozite electron-dense la nivelul peretelui celular, săgeată galbenă – vezicule cu aspect electron-clar acumulate în spațiul dintre cuticulă și peretele celular, săgeată neagră – epicuticulă, săgeată albă – fibrile.



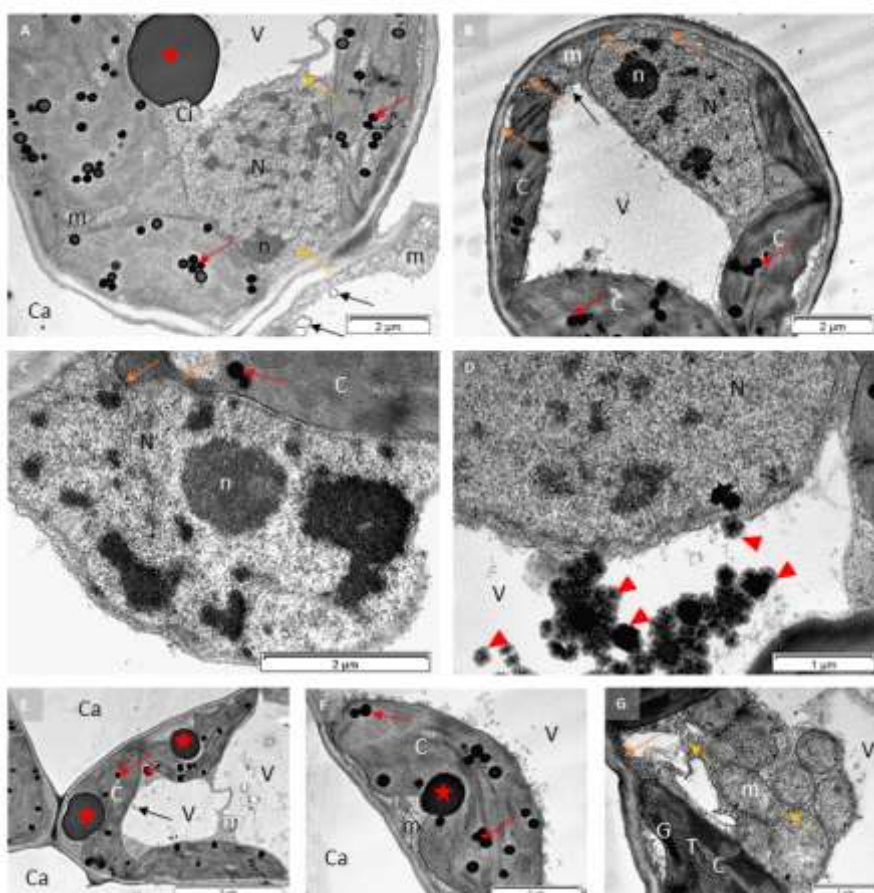
Planșa 7.33. A-F Aspecte din ultrastructura arcului sclerenchimatic perilibrian al pețiolului la *Leonurus cardiaca* L. V – vacuolă, Ci – citoplasmă, m – mitocondrie, săgeată galbenă – reticul endoplasmatic rugos, săgeată roșie – corp multivezicular, săgeată neagră – depozite electron-dense.



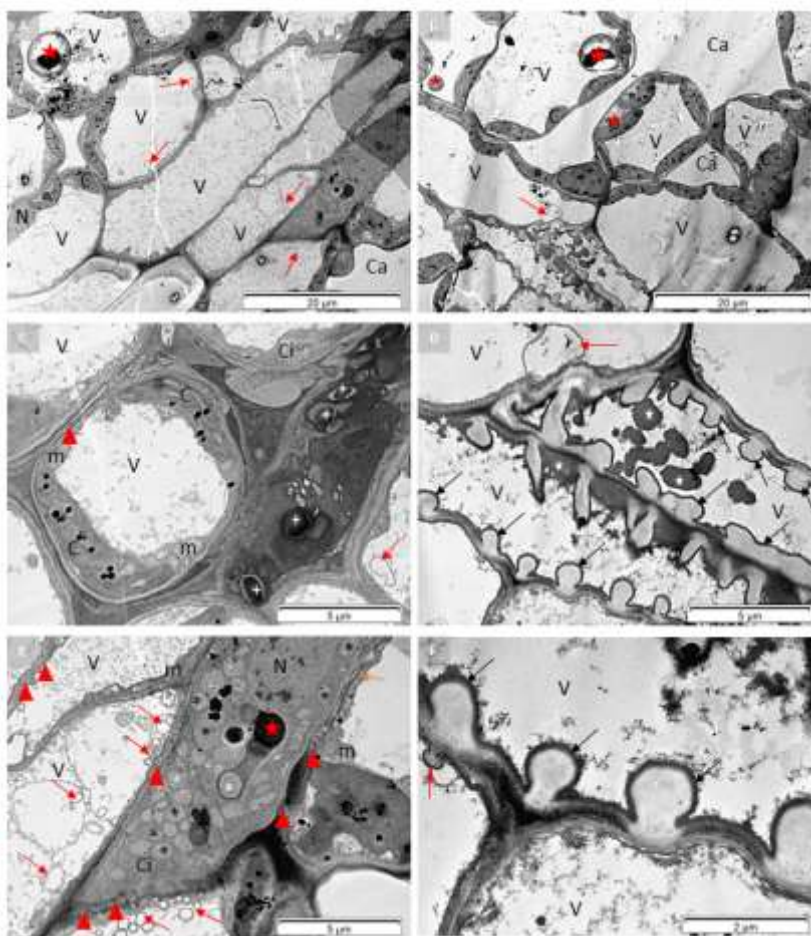
Planșa 7.34. A-B Celule de depozitare de la nivelul arcului sclerenchimatic perifloemic al pețiolului la *Leonurus cardiaca* L. V – vacuolă, M – meat, săgeată albastră – lamelă mediană, săgeată portocalie – reticul endoplasmatic, săgeată roșie – depozite sferice electron-dense.



Planșa 7.35. A – Secțiune transversală semifină prin limbul foliar la *Leonurus cardiaca* L. cu zona de analiză pentru TEM (în trapez), 20X; B – detaliu epiderme și mezofil, 40X. Es – epidermă superioară, Ei – epidermă inferioară, Pa – țesut palisadic, La – țesut lacunar, săgeată roșie – lacună aeriferă, săgeată neagră – picături lipidice.



Planșa 7.36. A-G – Secțiune transversală prin mezofilul limbului foliar la *Leonurus cardiaca* L.; A-B – Ultrastructura celulelor din țesutul lacunar; C-D – detalii din ultrastructura nucleului la celule din țesutul lacunar și depozite osmofilice intravacuolare; E-G – detalii din ultrastructura plastidelor. V – vacuolă, N – nucleu, n – nucleol, Ci – citoplasmă, m – mitocondrie, C – cloroplast, T – tilacoide, G – grana, steluță roșie – picătură lipidică, săgeată roșie – plastoglobuli, săgeată portocalie – reticul endoplasmatic rugos, săgeată galbenă – reticul endoplasmatic neted, săgeată neagră – vezicule, cap de săgeată roșie – depozite osmofilice intravacuolare.



Planșa 7.38. A-F – Secțiune transversală prin mezofilul limbului foliar la *Leonurus cardiaca* L. Ultrastructura celulelor parenchimatiche cu rol de sinteză și depozitare a unor compuși secundari; C, E – detalii din Figura A; D, F – detalii din Figura B. V – vacuolă, Ca – cameră aeriferă, C – cloroplast, m – mitocondrie, N – nucleu, Ci – citoplasmă, steluță roșie – picătură lipidică, săgeată roșie – vezicule, cap de săgeată roșie – plasmodesme, săgeată portocalie – reticul endoplasmatic, asterisc – corpuri membranare de depozitare, steluță albă – depozite osmofilice, săgeată neagră – invaginații veziculare ale plasmalemei.

Rezultate obținute în urma analizei fitochimice a extractelor obținute din plante de *Leonurus cardiaca* L. aparținând celor două populații recoltate din flora spontană a celor două zone geografice din România (zona de câmpie – Macea, zona de munte – Vatra Dornei):

În contextul factorilor pedoclimatici din cele două locații de recoltare, analiza LC/MS a relevat prezența a 10 polifenoli în extractele hidroalcoolice din plante integrale de *Leonurus cardiaca* L. recoltate din Macea și Vatra Dornei (Tabel.7.1.), 6 în infuzia din materialul vegetal recoltat din Macea și 7 în infuzia din materialul vegetal recoltat din Vatra Dornei (Tabel 7.2.). Crisina și esculetina au fost identificate pentru prima dată la această specie. Cantitativ, esculetina a fost compusul principal în extractele hidroalcoolice și în infuzia obținută din *L. cardiaca* din Vatra Dornei, în care a fost observată și cantitatea maximă. Cu excepția acidului salicilic, infuzia din material vegetal recoltat de la câmpie

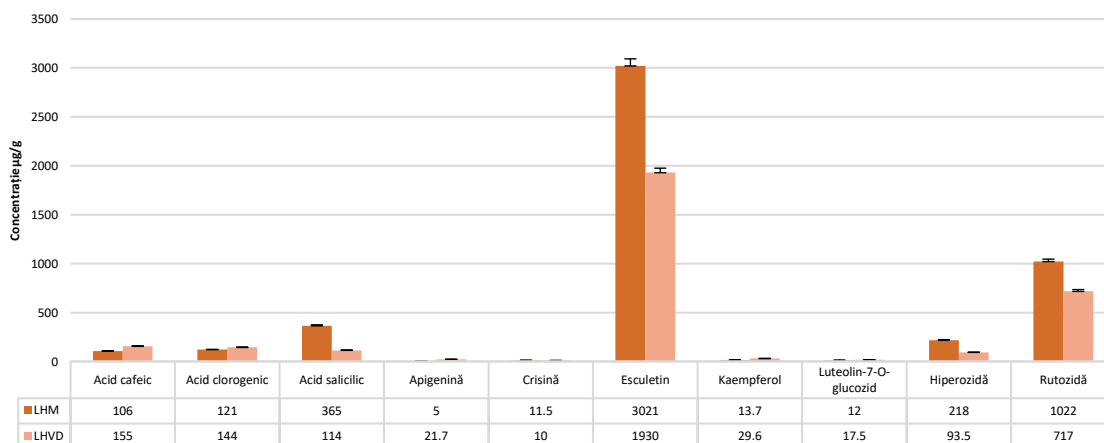
prezintă concentrații mai mari de polifenoli, comparativ cu extractul hidroalcoolic de aceeași proveniență, dar și cu infuzia preparată din materialul vegetal recoltat din zona montană (Graf. 7.1.-7.2.).

Tabel 7.1.

Evaluarea calitativă și cantitativă a polifenolilor din extracte hidroalcoolice de *Leonurus cardiaca* L. prin LC/MS

Nr. crt.	Compuși	Proba LHM [μg/g plantă uscată]	Proba LHVD [μg/g plantă uscată]
1	Acid cafeic	106 ± 2.7	155 ± 3.8
2	Acid clorogenic	121 ± 3.0	144 ± 3.6
3	Acid salicilic	365 ± 9.1	114 ± 2.8
4	Apigenină	5 ± 0.1	21.7 ± 0.8
5	Crisină	11.5 ± 0.72	10.1 ± 0.6
6	Esculetină	3021 ± 071.4	1930 ± 45.6
7	Hiperoxidă	218 ± 5.4	93.5 ± 2.51
8	Kaempferol	13.7 ± 0.84	29.6 ± 1.1
9	Luteolin-7-O-glucozidă	12 ± 0.7	17.5 ± 1.04
10	Rutozidă	1022 ± 24.1	717 ± 17.9

Abrevieri: Proba LHM = extract hidroalcoolic, locul de colectare a probei din Macea; Proba LHVD = extract hidroalcoolic, locul de colectare a probei din Vatra Dornei.



Graf. 7.1. Analiza LC/MS a extractului hidroalcoolic obținut din plante integrale de *Leonurus cardiaca* L. aparținând celor două populații luate în studiu - din Macea (LHM), respectiv din Vatra Dornei (LHVD).

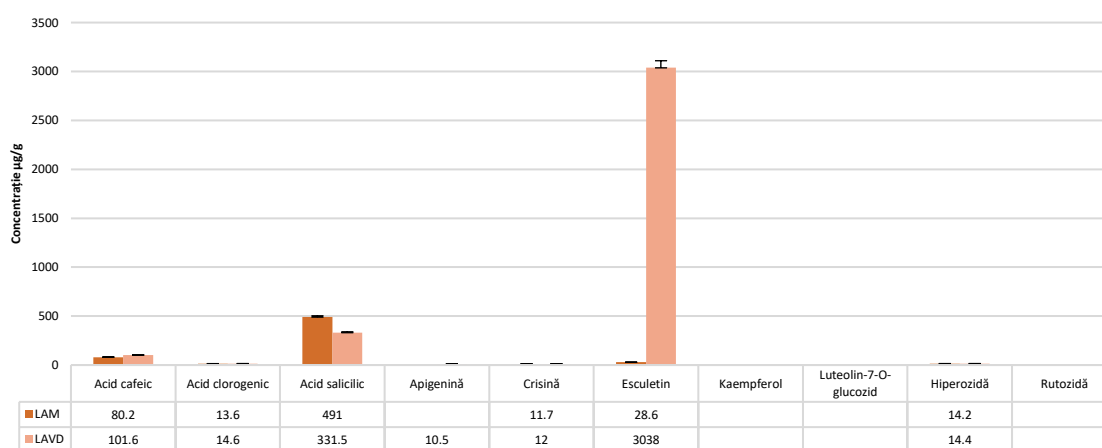
Tabel 7.2.

Evaluarea calitativă și cantitativă a polifenolilor din extracte apoase de *Leonurus cardiaca* L. prin LC/MS

Nr. crt	Compuși	Proba LAM [μg/g plantă uscată]	Proba LAVD [μg/g plantă uscată]
1	Acid cafeic	80.2 ± 2.1	101.6 ± 2.54
2	Acid clorogenic	13.6 ± 0.8	14.6 ± 0.80
3	Acid salicilic	491 ± 12.2	331.5 ± 8.34
4	Apigenină	<QL	10.5 ± 0.69
5	Crisină	11.7 ± 0.73	12.1 ± 0.71
6	Esculetină	28.6 ± 1.17	3038 ± 71.8

Nr. crt	Compuși	Proba LAM [μg/g plantă uscată]	Proba LAVD [μg/g plantă uscată]
7	Hiperozidă	14.2 ± 0.82	14.4 ± 0.82
8	Kaempferol	<QL	<QL
9	Luteolin-7-O-glucozidă	<QL	<QL
10	Rutozidă	<QL	<QL

Abrevieri: Proba LAM = extract apos, locul de colectare a probei din Macea; Proba LAVD = extract apos, locul de colectare a probei din Vatra Dornei; <QL = compus sub limita de cuantificare; valorile reprezintă media aritmetică ± deviația standard a trei măsurători independente ale injecțiilor replicate din același extract.



Graf. 7.2. Analiza LC/MS a extractului apos obținut din plante integrale de *Leonurus cardiaca* L. aparținând celor două populații luate în studiu - din Macea (LAM), respectiv din Vatra Dornei (LAVD).

7.5. Analiza comparativă a conținutului de polifenoli din extractele de *Leonurus cardiaca* L. în contextul factorilor de mediu

Locațiile de recoltare ale plantelor de *Leonurus cardiaca* L. analizate fitochimic sunt situate în zona de câmpie, la altitudinea de 99 m, respectiv în zona de munte, la altitudinea de 791 m. Condițiile climatice de pe parcursul dezvoltării ontogenetice corespund celor analizate pentru anul 2021 (anul recoltării materialului vegetal) în cadrul capitolului 4 și amintite la punctul 6.5. Având în vedere amplitudinea ecologică mare a speciei și cerințele medii față de temperatură și umiditate prezentate la punctul 2.3.4., condițiile climatice din zona de câmpie tind să satisfacă mai bine preferințele plantelor de *L. cardiaca* L., aspect susținut și de biomasa vizibil mai bine dezvoltată din această locație. Din punct de vedere edafic, pH-ul solului și indicele de azot total din zona de munte sunt mai apropiate de cerințele speciei decât cele din zona de câmpie. În locația de recoltare din Macea solul a prezentat un aport extrem de mic de fosfor asimilabil dar o cantitate foarte mare de potasiu asimilabil, în timp ce raportul lor a fost inversat în zona de munte, cu valori medii de fosfor asimilabil și foarte mici de potasiu asimilabil.

În aceste condiții, în materialul vegetal analizat aparținând populației de *L. cardiaca* de la câmpie au fost identificați 10 polifenoli în extractul hidroalcoolic și 6 în extractul apos. Situația a fost similară pentru materialul vegetal aparținând populației din zona de munte, o diferență fiind reprezentată de prezența apigeninei și în extractul apos, în cantități de 10,5 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată. În schimb, kaempferolul, luteolin-7-O-glucozida și rutozida au lipsit din infuzie la ambele populații luate în studiu. În extractele hidroalcoolice, indiferent de proveniența materialului vegetal, se remarcă esculetin ca și compus principal, în cantitate aproape dublă în extractul obținut din plantele de la câmpie (3021 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată), valoare care se păstrează foarte aproape de cantitatea din extractul apos al plantelor de la munte (3038 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată). În extractele alcoolice, următorul compus în cantități mai mari decât restul polifenolilor identificați este rutozida, cu o valoare cunoscută din nou mai mare în materialul vegetal recoltat de la câmpie (1022 vs. 717 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată). Cantitativ, următorii compuși semnificativi sunt acidul cafeic, acidul clorogenic și acidul salicilic, peste 100 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată, cu excepția acidului clorogenic din infuzii și a acidului cafeic din extractul LAM (zona de câmpie). Acidul cafeic prezintă valori apropiate între cele două populații în cadrul extractelor hidroalcoolice (106 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată – LHM, 155 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată – LHVD) și în extractul apos din plantele recoltate de la munte (101,6 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată – LAVD). Acidul clorogenic și acidul salicilic prezente în cantități egale în extractul hidroalcoolic din materialul vegetal recoltat din zona montană, variază odată în extractul apos (scade cantitatea de acid clorogenic la 14,6 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată și crește cantitatea de acid salicilic la 331,5 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată) și față de materialul vegetal recoltat din zona de câmpie. Au fost observate valori mai mici, dar apropiate de acid clorogenic – 121 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată în extractul hidroalcoolic, respectiv 13,6 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată în infuzie și valori mai mari de acid salicilic – 365 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată în extractul hidroalcoolic și 491 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată în infuzie. Ca urmare, cantitatea maximă de acid salicilic, considerat un marker de diferențiere a populațiilor de *L. cardiaca* L. (Lam și colab., 2022), a fost observată în extractul apos al materialului vegetal recoltat din zona de câmpie. Restul polifenolilor identificați au fost cuantificați cu valori sub 100 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată, cantitatea minimă (5 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată) fiind înregistrată pentru apigenina din extractul hidroalcoolic din plante de *L. cardiaca* L. recoltate de la câmpie.

CAPITOLUL 8

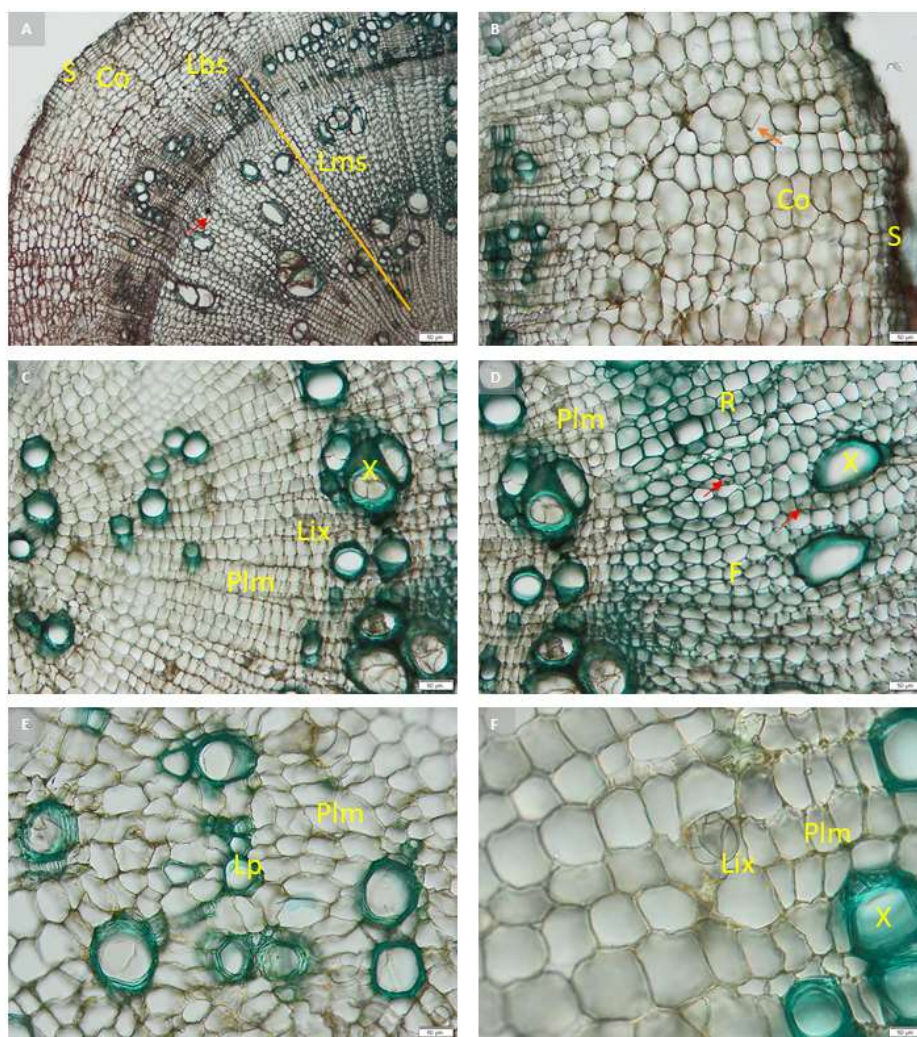
CERCETĂRI MORFO-ANATOMICE ȘI FITOCHIMICE LA SPECIA *OENOTHERA BIENNIS* L.

8.6. Considerații privind caracterele morfo-anatomice și compoziția fitochimică a organelor vegetative la specia *Oenothera biennis* L.

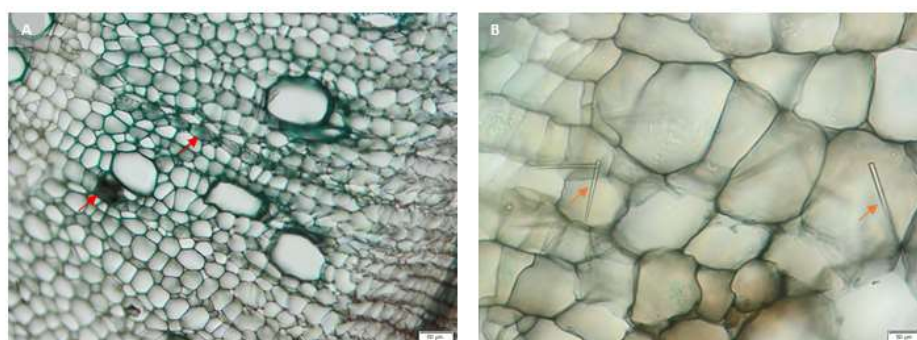
Rezultate de ordin morfo-anatomic la specia *Oenothera biennis* L.:

- O primă caracterizare detaliată a rădăcinii, tulpinii, pețiolului și limbului foliar la această specie din flora spontană a României prin tehnici de microscopie optică, SEM și TEM;
- Analiza anatomică a rădăcinii a relevat diferențe structurale între baza cărnosă și vârful subțire, baza prezentând suberul mai subțire, inelul de liber secundar mai gros, predominanța parenchimului liberian, celule parenchimatice cu rol de stocare între peridermă și floemul extern, o frecvență mai mare a rafidiilor și un corp lemnos secundar mai dezvoltat. Imaginile de microscopie optică confirmă prezența floemului interxilar la această specie, a celulelor libriforme cu depozite gelatinoase, respectiv cu aspect întunecat, iar imaginile SEM confirmă prezența mai multor depozite de cristale pe suprafața peridermei* (Planșele 8.1.-8.3., 8.10);
- Analiza morfo-anatomică a tulpinii indică prezența floemului interxilar, respectiv patru tipuri de peri tectori: în partea inferioară - (Pt-1) inserați perpendicular pe epidermă, unicelulari, lungi și drepți, cu vârful rotunjit, pereți netezi și transparentți; (Pt-2) situați în vârful unor creste mici, unicelulari, cu vârful ascuțit, scurți, drepți sau ușor curbați, cu pereții puternic îngroșați și cu protuberanțe pe suprafață, semi-transparentți; iar în partea superioară (Pt-3) unicelulari, lungi, cu partea terminală îndoită, paralelă cu epiderma, cu pereții groși, acoperiți de mici protuberanțe, (Pt-4) unicelulari, scurți, claviformi și curbați* (Planșele 8.4.-8.5., 8.11.). În structura pețiolului regăsim perii Pt-3 și Pt-4, mai numeroși pe fața superioară (Planșele 8.6.-8.7., 8.12.). În structura limbului foliar regăsim perii de tip Pt-1, Pt-4 și peri secretori foarte scurți, cu glanda puternic bombată; un aspect caracteristic al mezofilului este prezența unor formațiuni sferice, cu un conținut granular, rar translucid* (Planșele 8.8.-8.9., 8.13.-8.14.);

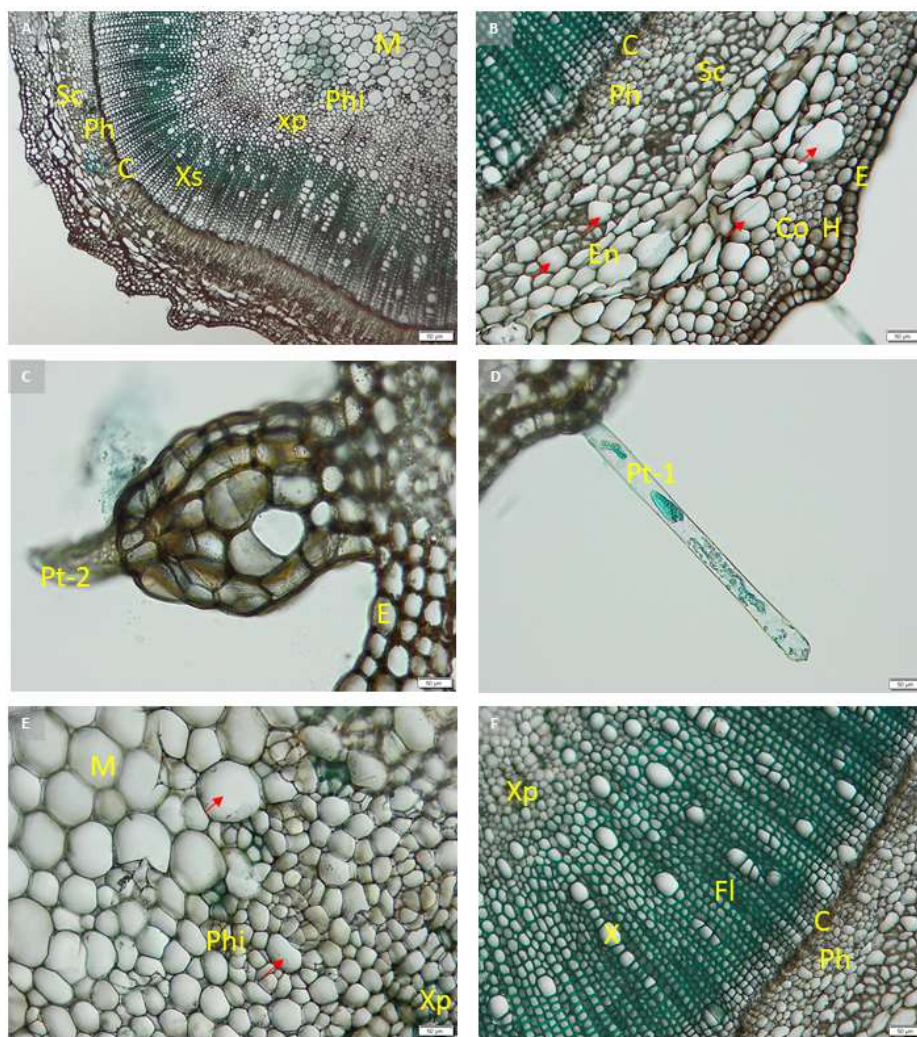
* Bota, V.B., Turcuș, V., Mihali, C.V., Arsene, G.-G., Ivănescu, L.C., Zamfirache, M.-M., 2020 - Anatomical investigations on *Oenothera biennis* L. using optical microscopy and scanning electron microscopy (SEM), Research Journal of Agricultural Science 52(1): 61-71.



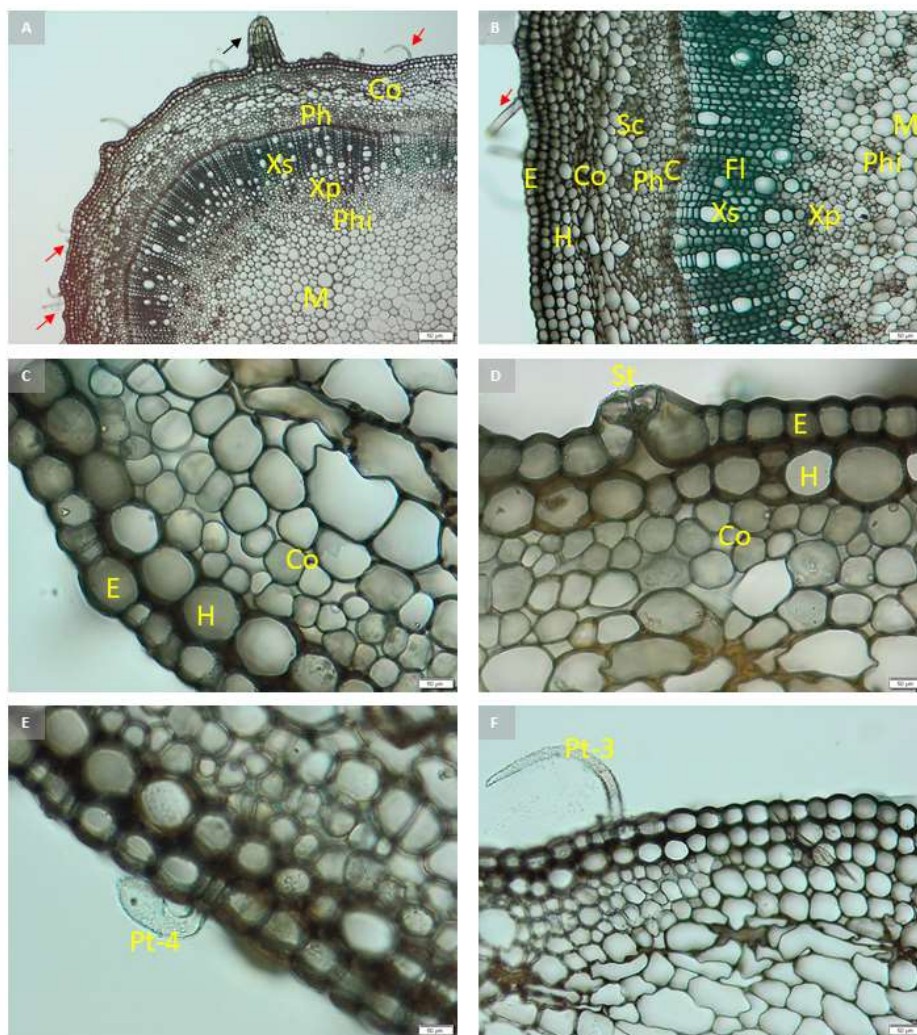
Planșa 8.2. A-F Secțiune transversală prin partea superioară a rădăcinii la *Oenothera biennis* L. S – suber, Co – cortex, Lbs – liber secundar, Lms – lemn secundar, X – xilem, Lix – liber interxilar, Plm – parenchim lemnos, R – rază medulară, F – fibre lemnoase, Lp – lemn primar, săgeată portocalie – rafide, săgeată roșie – celule depozitare.



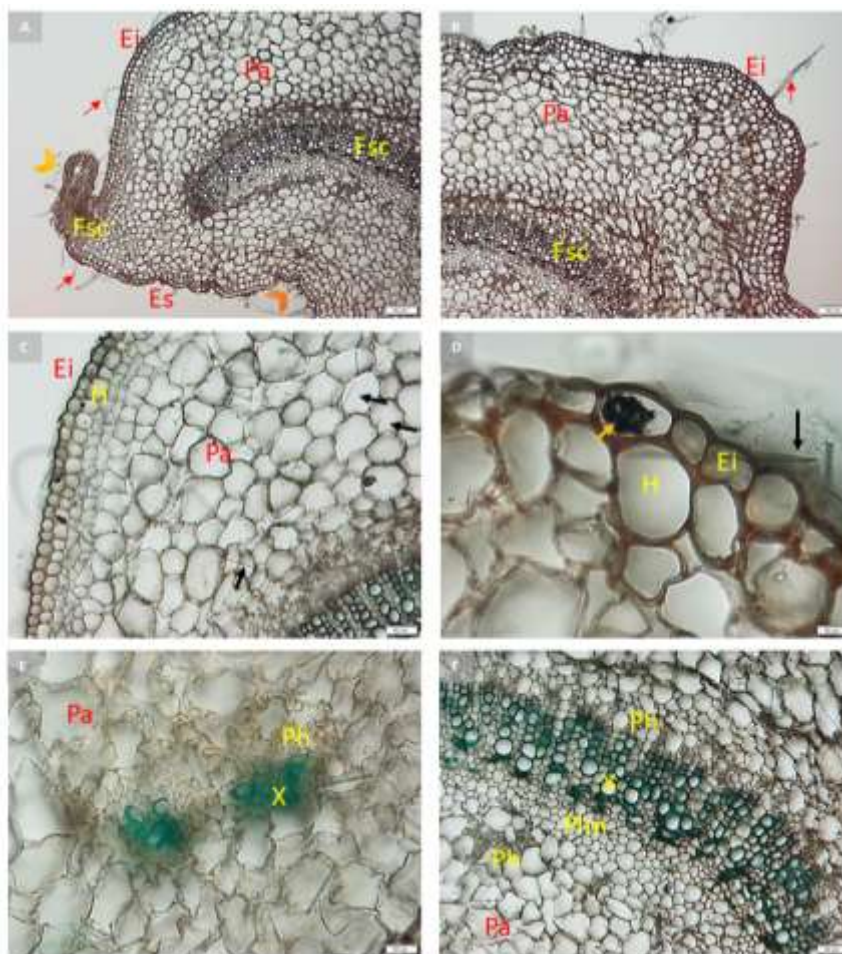
Planșa 8.3. A-B – Secțiune transversală prin partea superioară a rădăcinii la *Oenothera biennis* L. A – Celule cu depozite întunecate, respectiv mucilaginoase din razele medulare și libriform; B – rafide în parenchimul liberian; săgeată portocalie – rafide, săgeată roșie – celule depozitare.



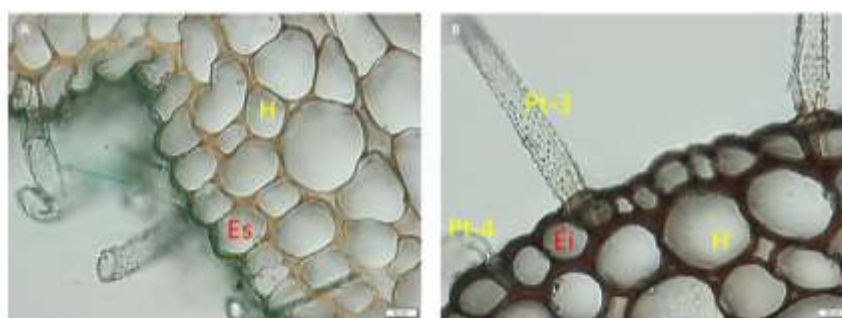
Planșa 8.4. A-F Secțiune transversală prin partea inferioară a tulpinii la *Oenothera biennis* L. Sc – periciclu sclerenchimatic, Ph – floem, C – cambiu, Xs – xilem secundar, Xp – xilem primar, Phi – floem intern, M – măduvă, E – epidermă, H – hipodermă colenchimatică, Co – cortex, En – endodermă, Pt-1 – păr tector de tip 1, Pt-2 – păr tector de tip 2, Fl- libriform, X – xilem, săgeți roșii – celule mari, caracteristice.



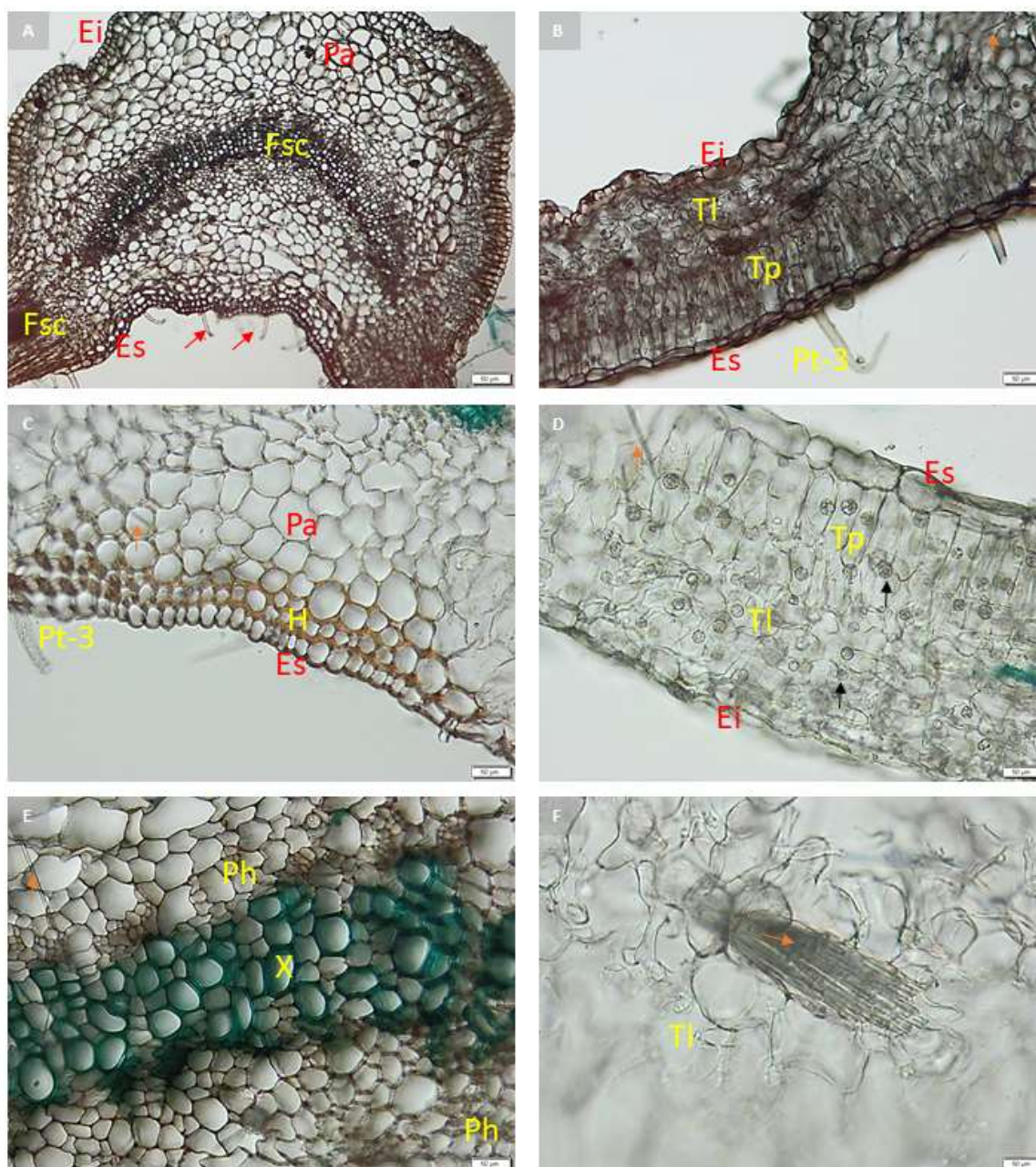
Planșa 8.5. A-F Secțiune transversală prin partea superioară a tulpinii la *Oenothera biennis* L. Co – cortex, Ph – floem, Xs – xilem secundar, Xp – xilem primar, Phi – floem intern, M – măduvă, E – epidermă, H – hipodermă colenchimatică, Sc – periciclu sclerenchimatic, C – cambiu, Fl – libriform, St – stomată, Pt-3 – păr tector de tip 3, Pt-4 păr de tip 4, săgeată neagră – creastă cu păr de tip 2, săgeată roșie – peri de tip 3 și 4.



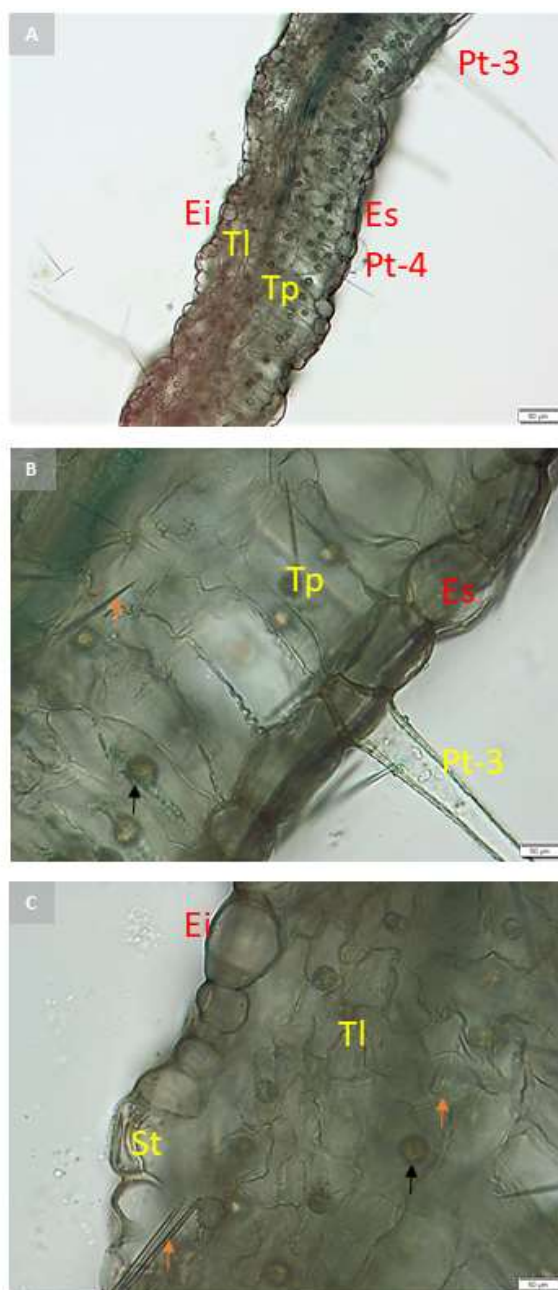
Planșa 8.6. A-F Secțiuni transversale prin pețiol la *Oenothera biennis* L. Ei – epidermă inferioară, Es – epidermă superioară, Fsc – fascicul conducător libero-lemnos, Pa – parenchim, H – hipodermă colenchimatică, Ph – floem, X – xilem, Plm – parenchim lemnos, săgeată roșie – peri tectori, săgeată chevron galbenă – creastă laterală, săgeată chevron portocalie – depresiune mediană adaxială, săgeată neagră – rafide, săgeată portocalie – depozit cristalin întunecat.



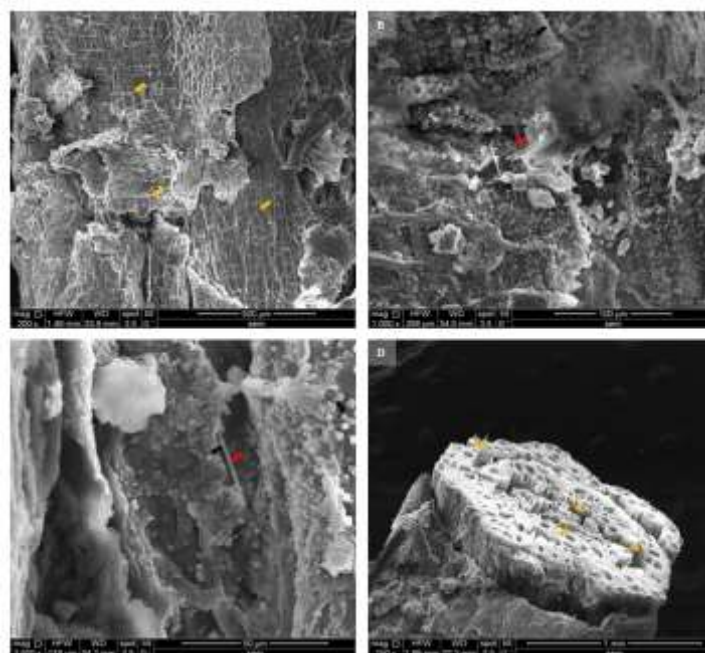
Planșa 8.7. Secțiune transversală prin pețiol la *Oenothera biennis* L. A – Sector de la nivelul depresiunii adaxiale cuprinzând epidermă cu cuticulă (verde), baza unor peri de tip 3 și 4, hipodermă pluristratificată, colenchimatică, B – Aspect al epidermei inferioare cu baza unor peri de tip 3 și 4; Es – epidermă superioară, Ei – epidermă inferioară, Pt-3 – păr tector de tip 3, Pt-4 – păr de tip 4.



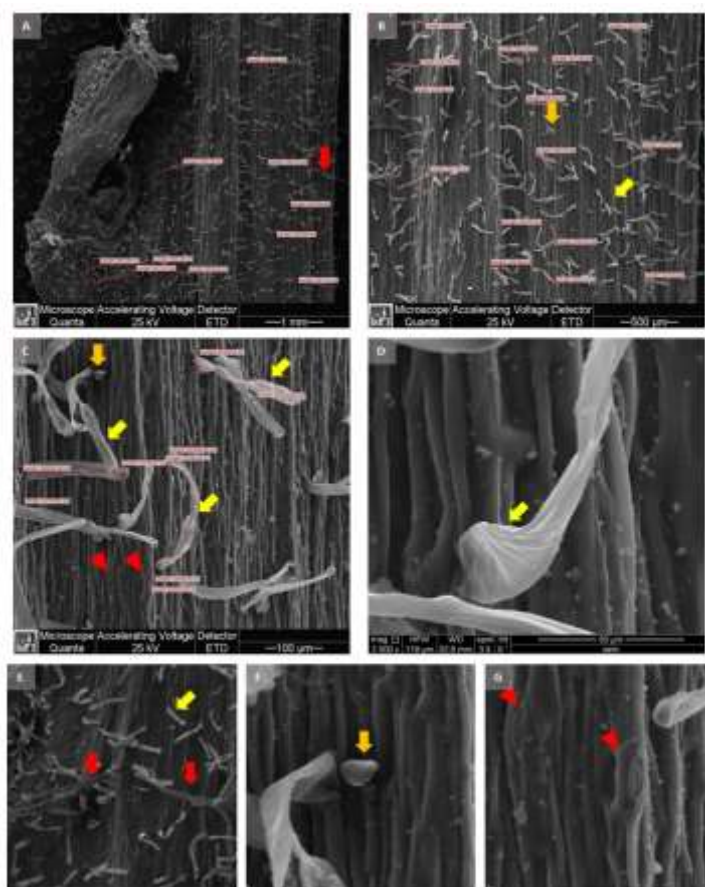
Planșa 8.8. A-F – Secțiune transversală prin limbul foliar la *Oenothera biennis* L.; A-C-E – aspecte ale nervurii mediane; B-D – aspecte ale limbului foliar între nervuri; F – sector de mezofil cu mănunchi de rafide. Ei – epidermă inferioară, Es – epidermă superioară, Pa – parenchim, Fsc – fascicul conducător libero-lemnos, Tp – țesut palisadic, Ti – țesut lacunos, Pt-3 – păr tector de tip 3, H – hipodermă, Ph – floem, X – xilem, săgeată roșie – peri tectori, săgeată portocalie – rafide, săgeată neagră – depozite sferice.



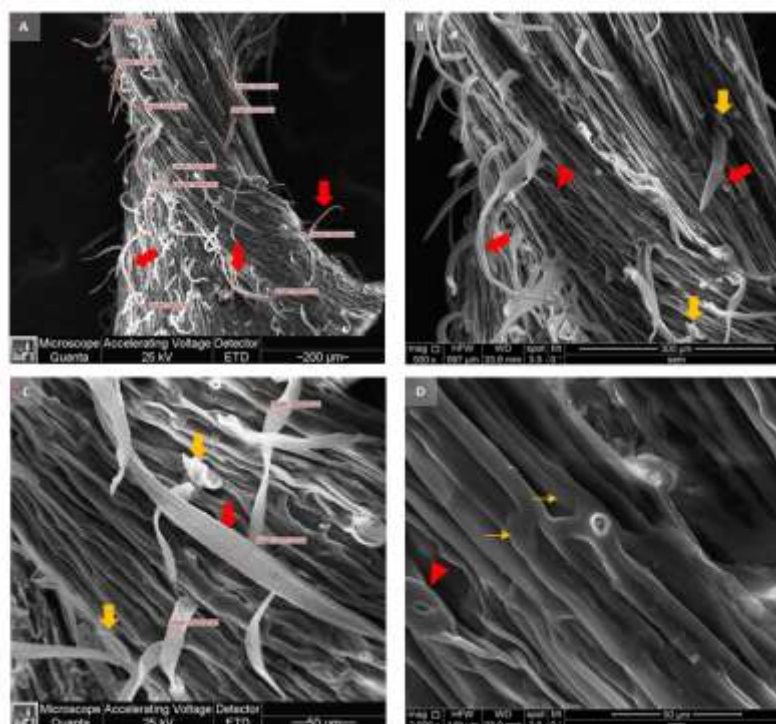
Planşa 8.9. A-C Secţiune transversală prin limbul foliar la *Oenothera biennis* L. Ei – epidermă inferioară, Es – epidermă superioară, Tp – ţesut palisadic, Tl – ţesut lacunos, Pt-3 – păr tector de tip 3, Pt-4 – păr de tip 4, St – stomată, săgeată portocalie – rafide, săgeată neagră – depozite sferice.



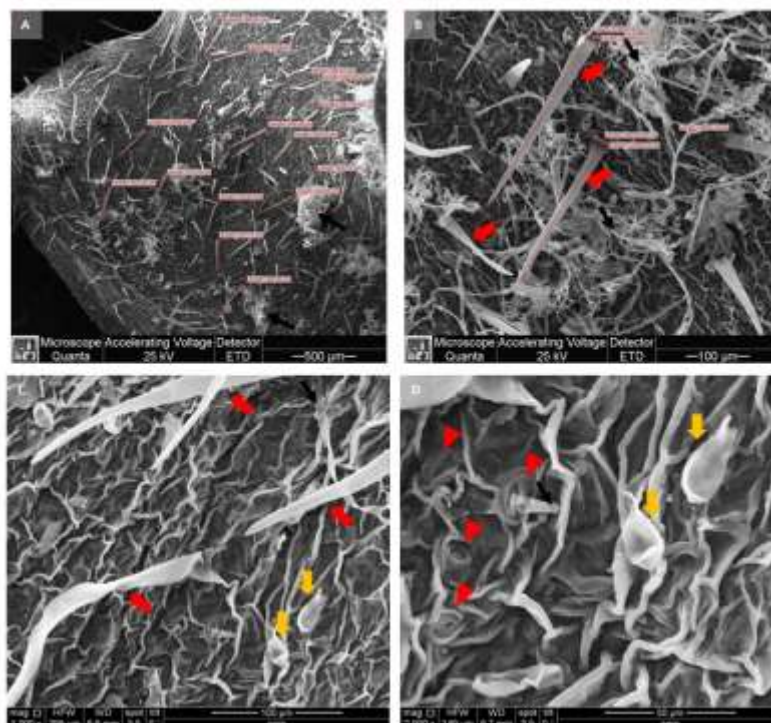
Planșa 8.10. A – microtopografia de suprafață a rădăcinii la *Oenothera biennis* L.; B-C – tipuri de cristale la suprafața rădăcinii; D – aspectul vaselor conducătoare în secțiune longitudinal-transversală. Săgeți portocalii – celule de formă rectangulară, săgeți roșii – rafide, săgeți negre – cristale prismatice, săgeți galbene – aspectul perforațiilor din pereții vaselor de lemn.



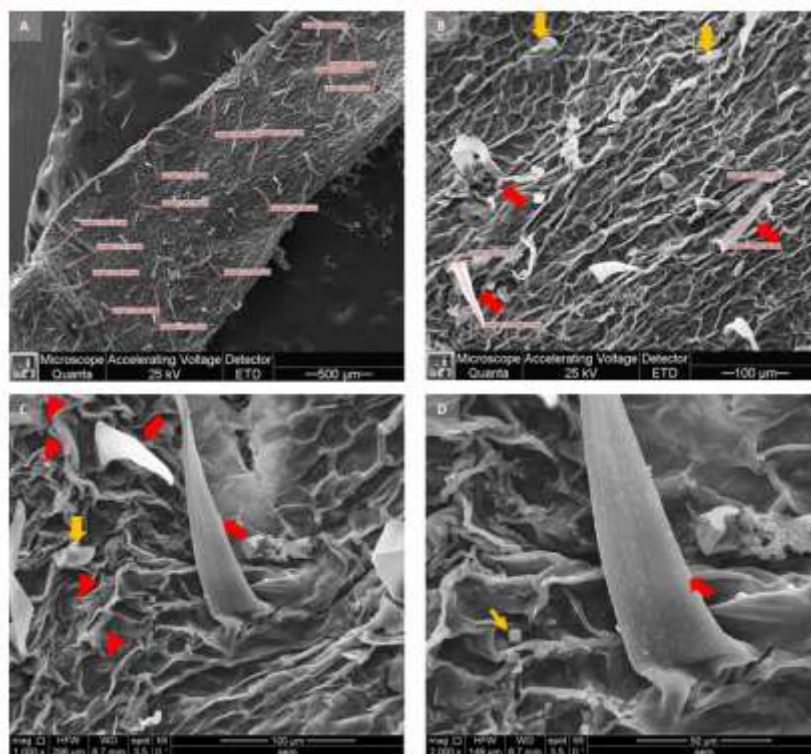
Planșa 8.11. A-D Aspecte micromorfologice ale tulpinii la *Oenothera biennis* L.; E-G -detalii peri tectori și stomate. Săgeți roșii – peri tectori cu vârf ascuțit, săgeți galbene – peri tectori de tip Pt-1, săgeți portocalii – peri de tip Pt-4, cap de săgeată roșie– stomată.



Planșa 8.12. A-B Aspecte micromorfologice ale pețiolului la *Oenothera biennis* L.; C – detaliu peri tectori Pt-3 cu suprafața papilată și peri de tip Pt-4; D- detaliu de suprafață cu striaii ale cuticulei și stomată. Săgeți roșii – peri tectori de tip Pt-3, săgeți portocalii – peri de tip Pt-4, săgeți subțiri – striaii ale cuticulei, cap de săgeată roșie – stomată.

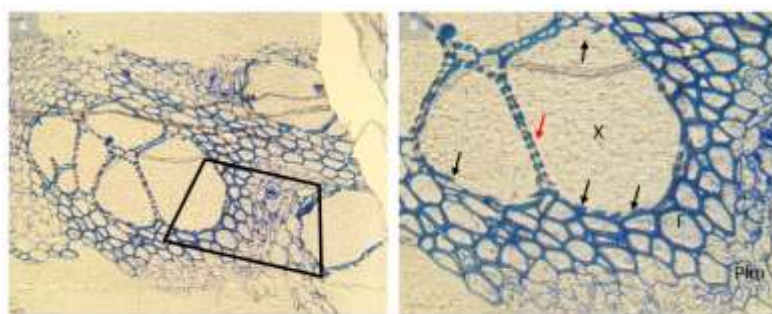


Planșa 8.13. A - Aspectul general al epidermei inferioare la *Oenothera biennis* L.; B – detaliu peri tectori și hife miceliene; C – detaliu peri Pt-3 și Pt-4; D – aspectul cuticulei, stomate, hifă miceliană și peri Pt-4. Săgeți roșii – peri tectori de tip Pt-3, săgeți portocalii – peri de tip Pt-4, săgeți negre – hife miceliene, cap de săgeată roșie – stomată.

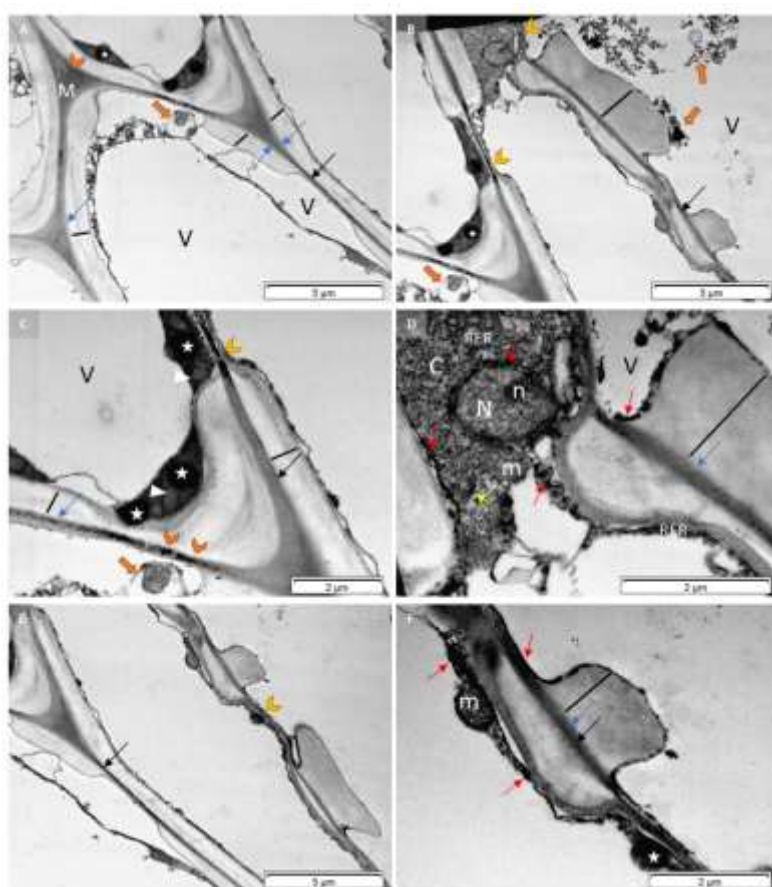


Planșa 8.14. A – Aspectul general al epidermei superioare la *Oenothera biennis* L.; B-C – detalii cuticulă, peritectori Pt-3 și Pt-4, stomate; D – detaliu protuberanțe pe suprafața perilor Pt-3 și prezența cristalelor.

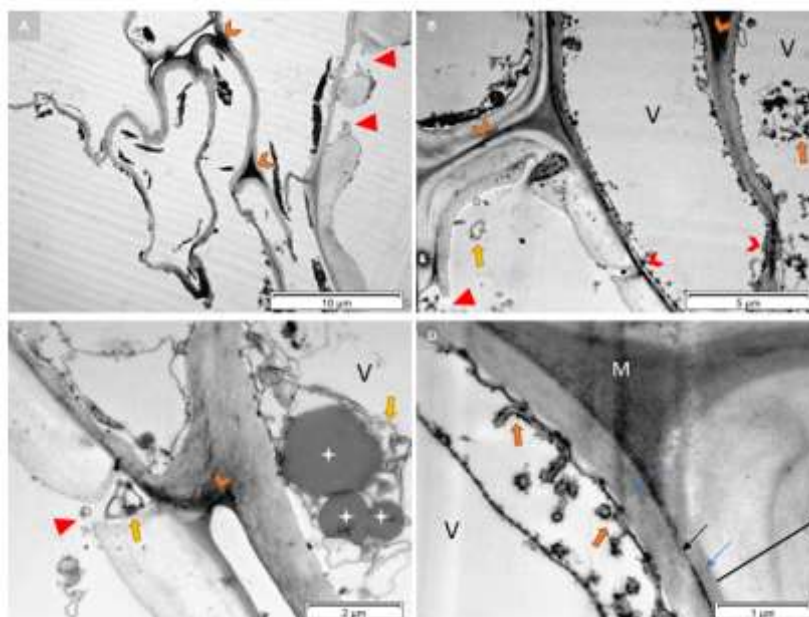
– Imaginile TEM surprind procese de îngroșare a peretelui secundar, de transport și depozitare a unor metaboliți (polifenoli, lipide, mucilagii) în ultrastructura fasciculelor conducătoare ale rădăcinii (Planșele 8.15.-8.17.), respectiv depozite intracitoplasmice și intravacuolare alături de prezența mai puțin obișnuită a cloroplastelor și a corpurilor multilamelare în raze medulare și fibre lemnoase ale tulpinii (Planșele 8.19., 8.22.-8.23., 8.25.). Analiza ultrastructurală a pețiolului a relevat prezența depozitelor de metaboliți secundari în spațiile extracelulare, în pereții celulari și în vacuolele celulelor parenchimatiche de formă și dimensiuni neregulate în secțiune transversală (Planșele 8.26.-8.28.). În ultrastructura țesutului lacunos al limbului foliar au fost observate trei tipuri de celule: celule în care predomină vacuola și cloroplastele cu granule de amidon, celule cu citoplasmă abundentă, granulară, cloroplaste, depozite lipidice și/sau cristaline și celule nucleate, cu citoplasmă abundentă, omogenă, fără cloroplaste (Planșele 8.30.-8.33.).



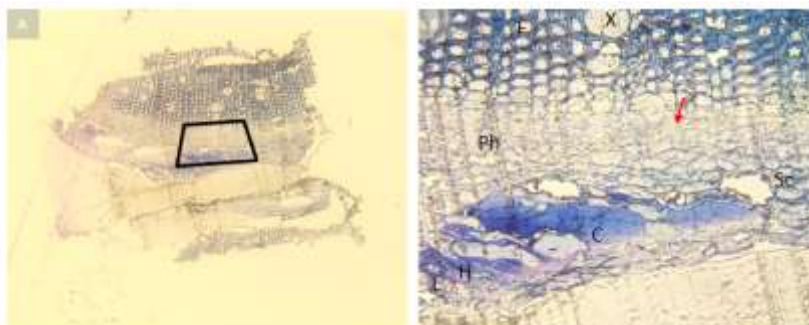
Planșa 8.15. A – Secțiune transversală semifină prin rădăcină la *Oenothera biennis* L. cu zona de analiză pentru TEM (în trapez), 20X; B – detaliu sector de lemn secundar, 40X. X – xilem, F – fibre lemnoase, Plm – parenchim lemnos, săgeată neagră – îngroșări inegale ale pereților celulari, săgeată roșie – punctuațiuni mărginite.



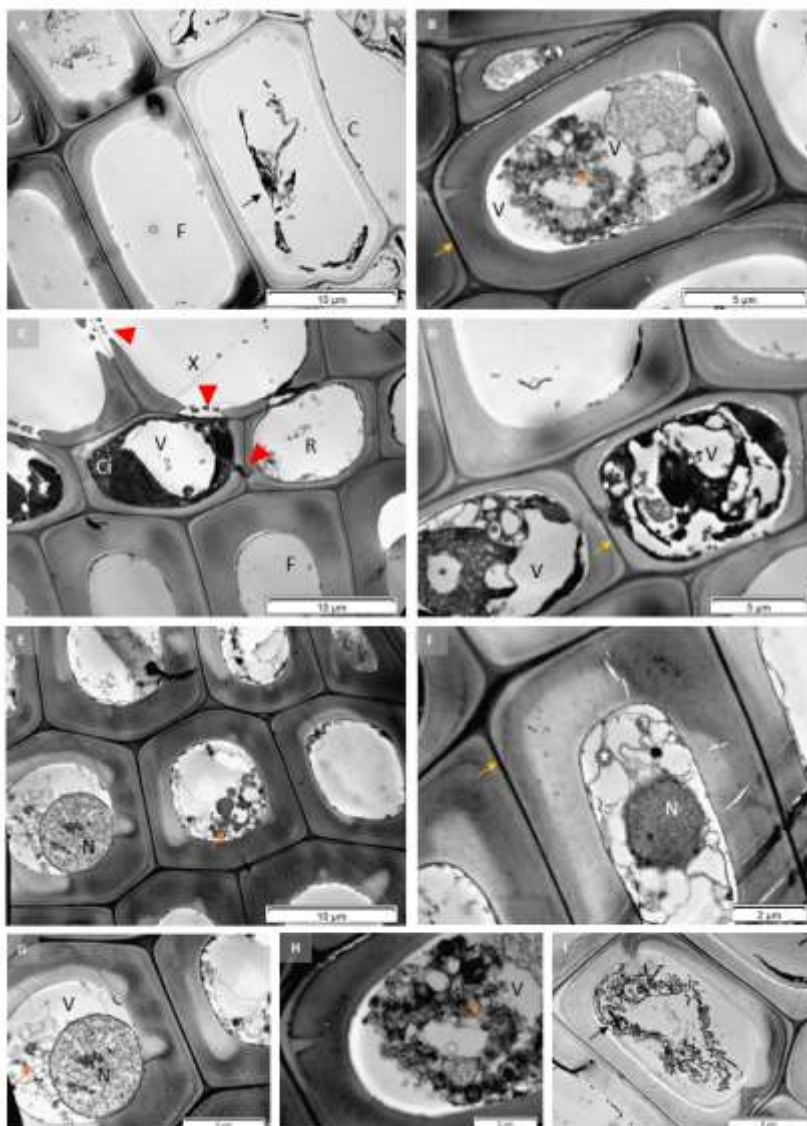
Planșa 8.16. A-F – Aspecte din ultrastructura fibrelor lemnoase ale rădăcinii la *Oenothera biennis* L. V – vacuolă, N – nucleu, n – nucleol, C – citoplasmă, m – mitocondrie, RER – reticul endoplasmatic rugos, săgeată galbenă – Aparat Golgi, săgeată roșie – formațiuni electron-dense în citoplasmă, cap săgeată albă – picături lipidice, săgeți portocalii – vezicule de transport, săgeată chevron galbenă – porțiuni neîngroșate ale peretelui celular, săgeată chevron portocalie – depuneri electron-dense la nivelul lamelei mediane și meaturilor, steluță albă – corpuri sferice electron-dense, săgeată albastră – perete primar, săgeată neagră – lamela mediană, bară neagră – perete secundar.



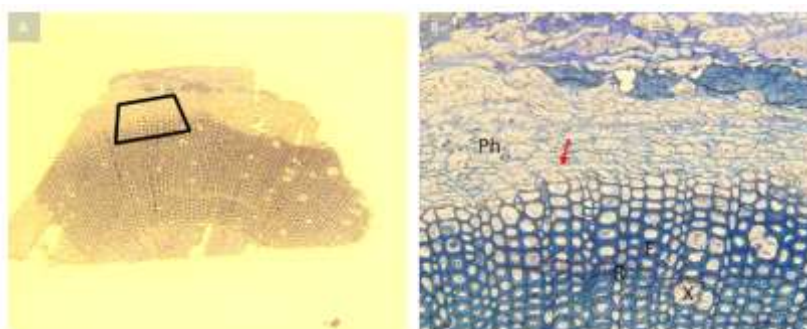
Planșa 8.17. A – Celule de parenchim lemnos în contact cu vas lemnos la rădăcina de *Oenothera biennis* L.; B – parenchim lemnos în contact cu fibre lemnoase; C-D – detalii sector de fibre lemnoase. V – vacuolă, M – meat, săgeată albastră – perete primar, săgeată neagră – lamela mediană, bară neagră – perete secundar, săgeată chevron portocalie – depozite electron-dense, săgeată chevron roșie – plasmodesme, săgeată galbenă – formațiuni veziculare intravacuolare, săgeți portocalii – vezicule de transport, steluța albă – picături lipidice, cap săgeată roșie – punctuațiuni.



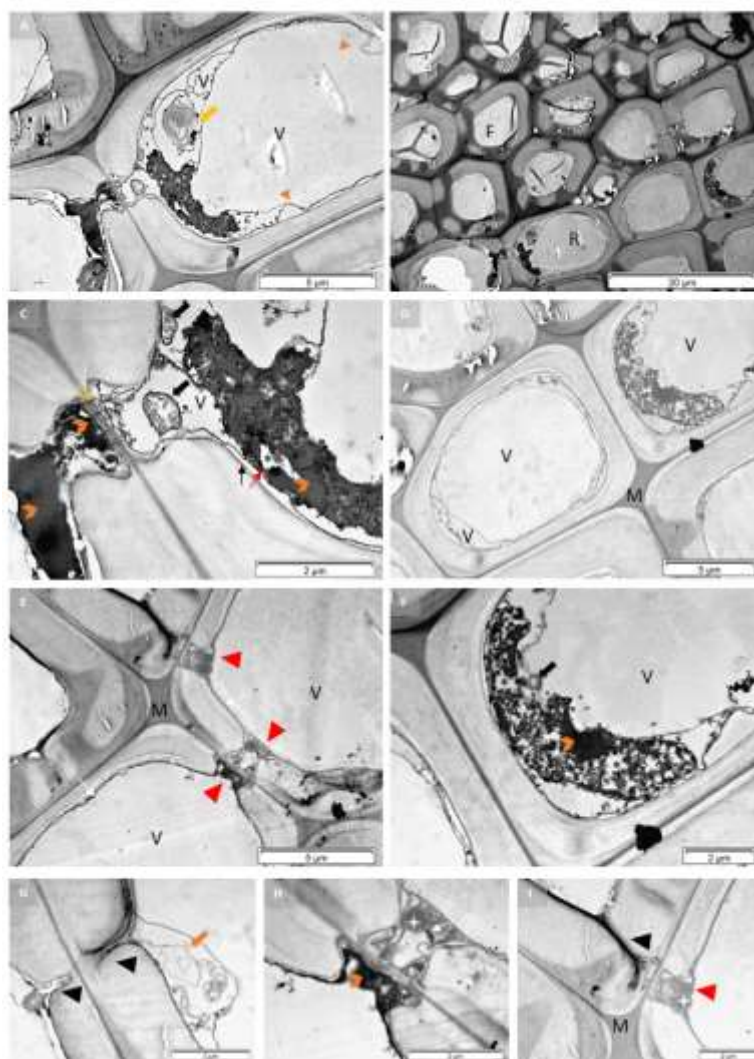
Planșa 8.19. A – Secțiune transversală semifină prin tulpină la *Oenothera biennis* L. cu zona de analiză pentru TEM (în trapez), 20X; B – detaliu scoarță și cilindru central, 40X. E – epidermă, H – hipodermă, Sc – periciclu sclerenchimatic, C – cortex, Ph – liber, X – vas de lemn, F – fibre lemnoase, săgeată roșie – cambiu.



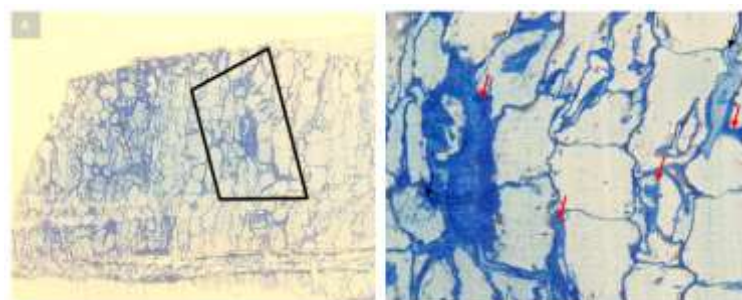
Planșa 8.22. A-I – Aspecte din ultrastructura celulelor din corpul lemnos secundar al tulpinii la *Oenothera biennis* L; G, H – detalii ale figurilor E, respectiv B. C – cambiu, F – fibră lemnoasă, X – xilem, R – rază medulară, V – vacuolă, Ci – citoplasmă, N – nucleu, cap săgeată roșie – punctuațiune mărginită, săgeată galbenă – lamelă mediană, săgeată portocalie – vezicule, săgeată neagră – resturi celulare rămase în urma diferențierii cambiumului, asterisc – vezicule cu mucilagii.



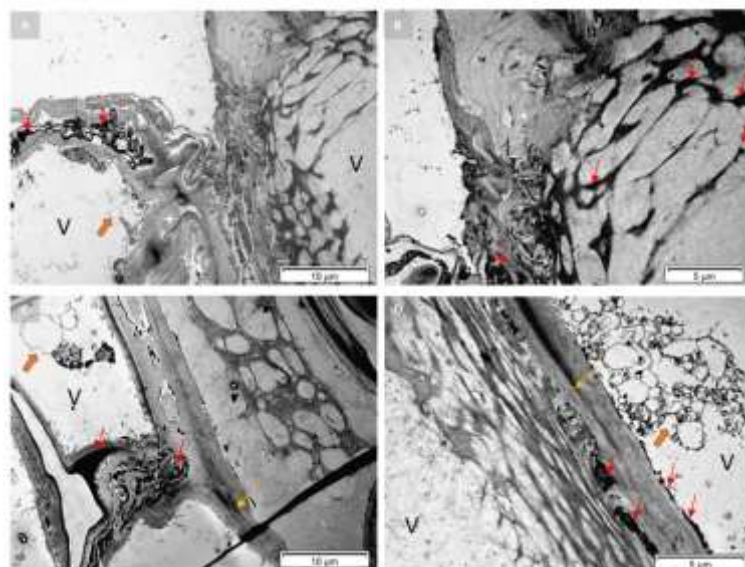
Planșa 8.23. A – Secțiune transversală semifină prin tulpină la *Oenothera biennis* L. cu zona de analiză pentru TEM (în trapez), 20X; B – detaliu sector din cilindrul central, 40X. Ph – floem, R – rază medulară, F – fibre lemnoase, X – xilem, săgeată roșie – cambiu.



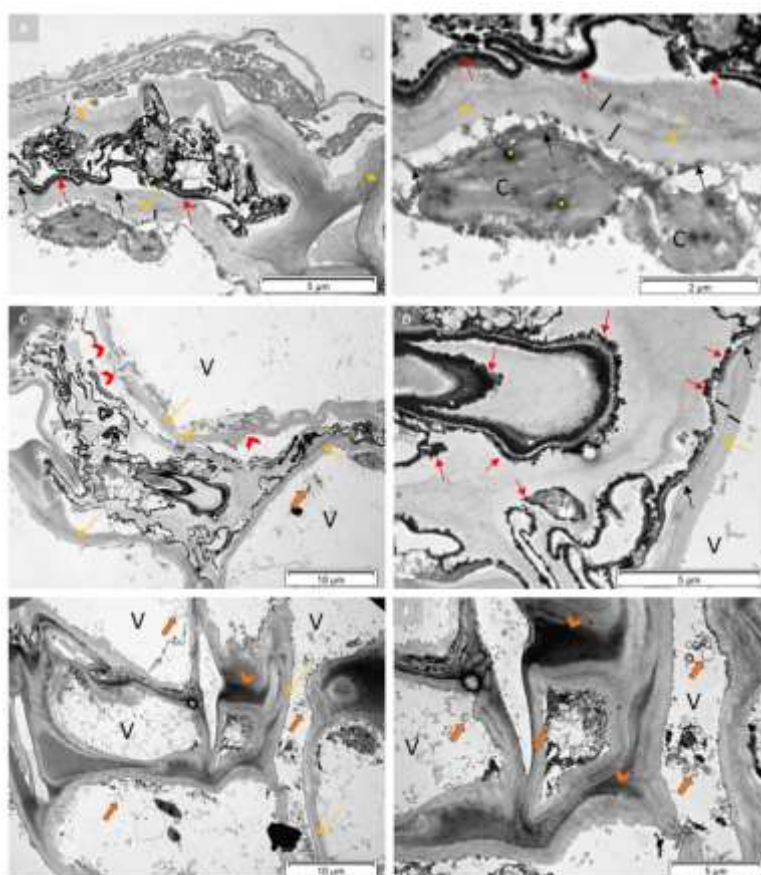
Planșa 8.25. A – Aspecte din ultrastructura celulelor de rază medulară și fibră lemnoasă din corpul lemnos secundar al tulpinii la *Oenothera biennis* L. F – fibră lemnoasă, R – rază medulară, V – vacuolă, M – meat, cap săgeată roșie – punctuațiune mărginită, cap săgeată neagră – punctuațiune canaliculară, cap săgeată portocalie – vezicule parțial fuzionate cu tonoplastul sau cu membrana celulară, săgeată neagră groasă – vezicule de transport, săgeată galbenă – plasmodesmă, săgeată neagră – membrana plasmatică, săgeată albă – filament de citoplasmă, săgeată roșie – reticul endoplasmatic rugos, steluță albă – picătură lipidică, săgeată galbenă groasă – corp multilamelar, săgeată portocalie – vezicule multimembranare, asterisc – veziculă cu mucilagiu, săgeată chevron portocalie – depozit osmofilic.



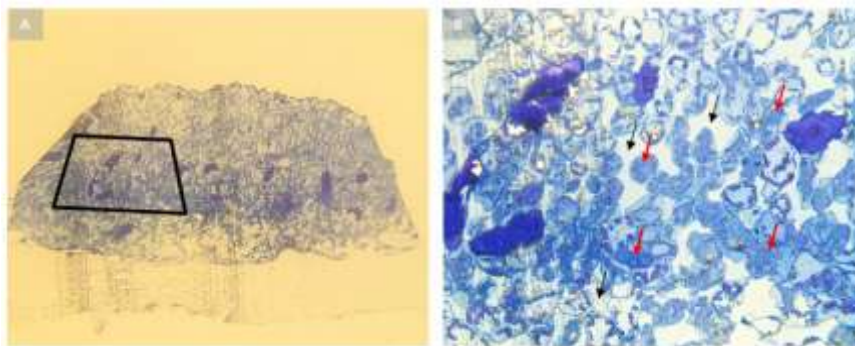
Planșa 8.26. A – Secțiune transversală semifină prin pețiol la *Oenothera biennis* L. cu zona selectată pentru analiza TEM (în trapez), 10X; B – detaliu sector analizat cu parenchim de stocare, 40X. Săgeată roșie – depozite colorate intens cu Epoxy Tissue Stain, săgeată neagră – depozite colorate deschis indicând substanțe sau concentrații diferite.



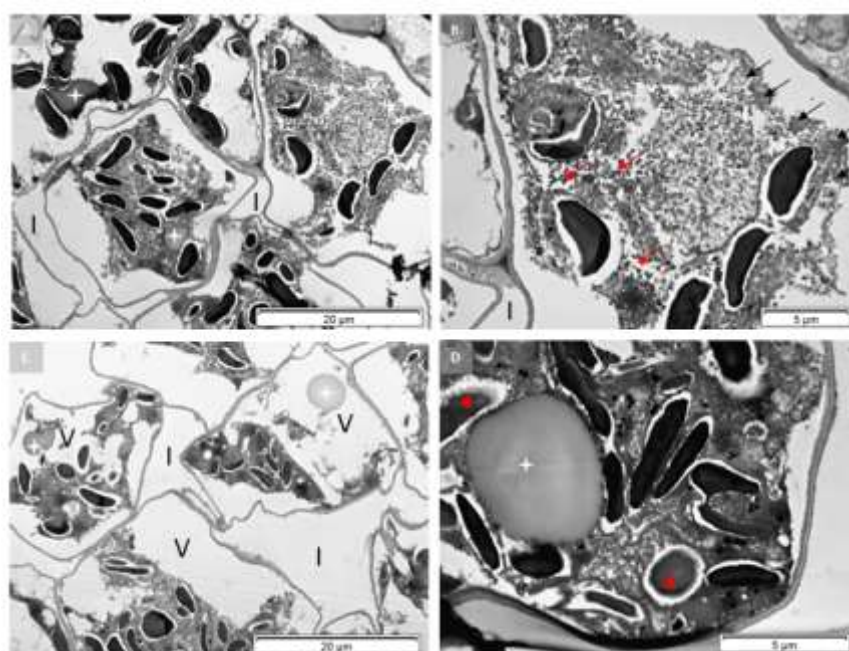
Planșa 8.27. A-D – Sector de celule parenchimatice ale pețiolului la *Oenothera biennis* L. cu numeroase depozite electron-dense și vezicule de transport. V – vacuolă, săgeată roșie – depozite electron dense, săgeată portocalie – vezicule de transport, săgeată galbenă – lamelă mediană, steluță albă – picătură lipidică.



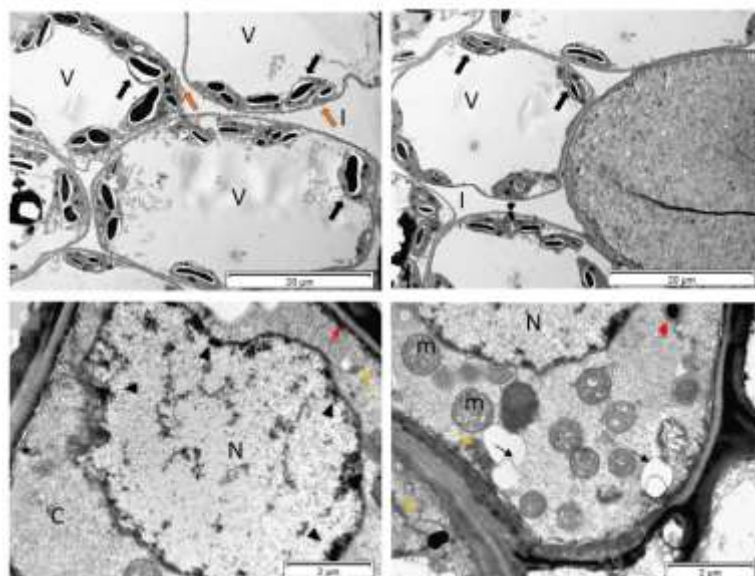
Planșa 8.28. A-D – Sector de parenchim al pețiolului la *Oenothera biennis* L. cu depozite intracelulare de metaboliți secundari; E-F – sector de parenchim cu depozite extracelulare, de la nivelul pereților celulari și numeroase vezicule intravacuolare. V – vacuolă, C – cloroplast, bară neagră – perete celular, săgeată neagră – filamente de citoplasmă, săgeată galbenă – lamelă mediană, săgeată roșie – picături osmofilice, săgeată portocalie – vezicule de transport, săgeată chevron roșie – punctuațiuni, săgeată chevron portocalie – depozite electron-dense extracelulare, steluță galbenă - plastoglobul.



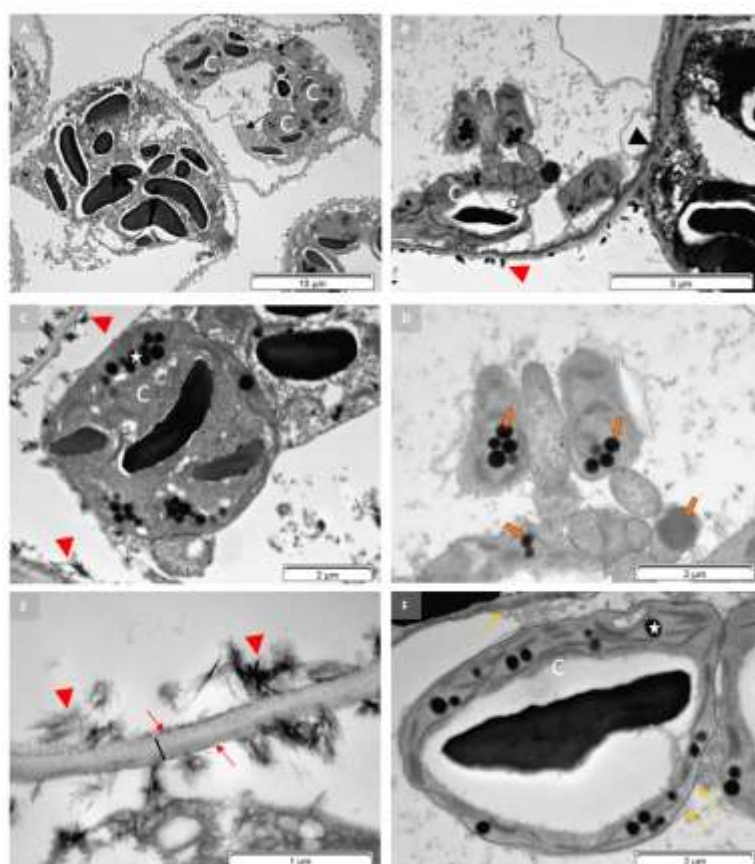
Planșa 8.30. A – Secțiune transversală semifină prin limbul foliar la *Oenothera biennis* L. cu zona selectată pentru analiza TEM (în trapez), 10X; B – detaliu sector analizat cu parenchim lacunos, 40X. Săgeată roșie – celule depozitare, săgeată neagră – lacune aerifere.



Planșa 8.31. A-D – Ultrastructura celulelor din țesutul lacunos al limbului foliar la *Oenothera biennis* L. V – vacuolă, I – lacună aeriferă, steluță albă – picătură lipidică, săgeată neagră – mitocondrie, săgeată roșie – ribozomi, cap de săgeată roșie – depozite mucilaginoase.



Planșa 8.32. A-D – Ultrastructura celurilor din țesutul lacunos al limbului foliar la *Oenothera biennis* L. V – vacuolă, l – lacună aeriferă, N – nucleu, C – citoplasmă, m – mitocondrie, săgeată neagră (A, B) – cloroplast cu granule mari de amidon și plastoglobuli, săgeată roșie – reticul endoplasmatic rugos, săgeată galbenă – reticul endoplasmatic neted, săgeată neagră (D) – vezicule, cap de săgeată neagră – cromatină inactivă, cap de săgeată roșie – formațiune osmofilică în corp cu membrană simplă.



Planșa 8.33. A-F – Aspecte din ultrastructura celulelor depozitare din țesutul lacunos al limbului foliar la *Oenothera biennis* L. C – cloroplast, steluță albă – plastoglobul, săgeată neagră – mitocondrie, săgeată roșie – membrană celulară, bară neagră – perete celular, cap de săgeată roșie – formațiuni aciculare osmofilice, cap de săgeată neagră – vezicule la nivelul peretelui celular, săgeată portocalie – vezicule cu picături osmofilice.

Rezultate obținute în urma analizei fitochimice a extractelor obținute din plante de *Oenothera biennis* L. aparținând celor două populații recoltate din flora spontană a celor două zone geografice din România (zona de câmpie – Macea, zona de munte – Vatra Dornei):

Analiza calitativă și cantitativă a extractelor din plante integrale de *Oenothera biennis* L. a relevat în contextul condițiilor pedoclimatice din Macea, 13 polifenoli în extractul hidroalcoolic, 10 în infuzie, iar în contextul condițiilor pedoclimatice din Vatra Dornei, 14 polifenoli în extractul hidroalcoolic și 5 în infuzie (Tabel. 8.1.-8.2.). Conform literaturii de specialitate consultate, 7 flavonoide au fost identificate pentru prima dată la această specie: apigenină, crisină, esculetină, hesperetină, hiperozidă, luteolină și naringenină. Compușii cuantificați sunt bine cunoscuți în literatura științifică pentru proprietățile lor medicinale și pentru rolul pe care îl au în interacțiunile plantelor cu factorii de mediu, indicând potențialul terapeutic al speciei. În general, conținutul de polifenoli al extractului hidroalcoolic este superior celui apos atât din punct de vedere cantitativ, cât și calitativ. Conținutul de polifenoli din extractul obținut din probe prelevate din zona de câmpie este mai mare comparativ cu cel obținut din probele prelevate din zona montană. S-au înregistrat diferențe notabile în conținutul de acid clorogenic, esculetină, kaempferol, luteolină și naringenină în extractul hidroalcoolic de *O. biennis* colectată din zonele montane. Cantitatea de acid galic a fost similară în ambele tipuri de extract* (Graf. 8.1.-8.2.).

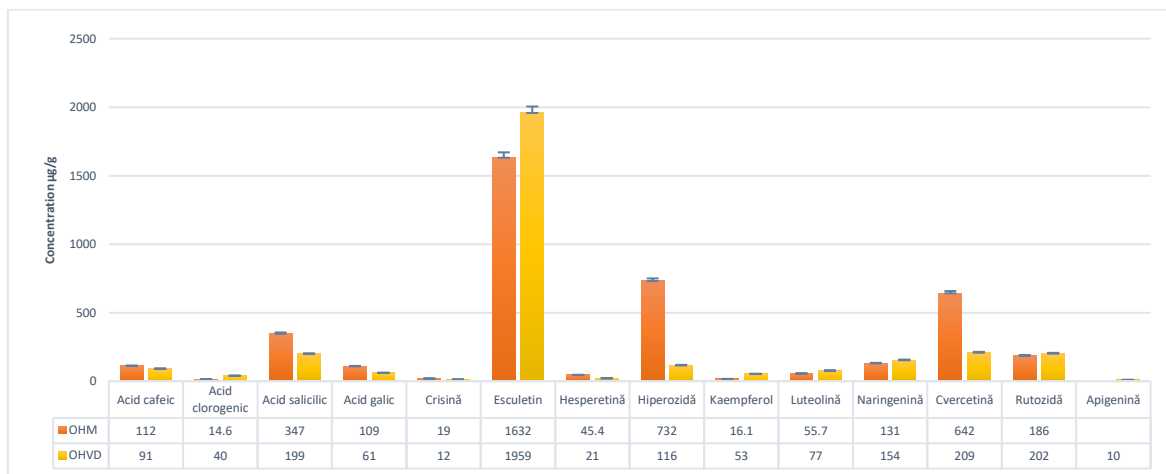
Tabel 8.1.

Evaluarea calitativă și cantitativă a polifenolilor din extracte hidroalcoolice de *Oenothera biennis* L. prin LC/MS

Nr. crt.	Compuși	Proba OHM [μg/g plantă uscată]	Proba OHVD [μg/g plantă uscată]
1	Acid cafeic	112 ± 2.8	91 ± 2.4
2	Acid clorogenic	14.6 ± 0.81	40 ± 1.0
3	Acid salicilic	347 ± 8.7	199 ± 4.9
4	Acid galic	109 ± 2.7	61 ± 1.6
5	Apigenină	<QL	10 ± 0.6
6	Crisină	19 ± 1.1	12 ± 0.7
7	Esculetin	1632 ± 38.5	1959 ± 46.3
8	Hesperetin	45.4 ± 1.25	21 ± 1.2
9	Hiperozidă	732 ± 18.3	116 ± 2.9
10	Kaempferol	16.1 ± 0.91	53 ± 1.4
11	Luteolină	55.7 ± 1.54	77 ± 2.0
12	Naringenină	131 ± 3.2	154 ± 3.8
13	Cvercetină	642 ± 16.0	209 ± 5.2
14	Rutozidă	186 ± 4.6	202 ± 5.0

Abrevieri: Proba OHM = extract hidroalcoolic, locul de colectare a probei din Macea; Proba OHVD = extract hidroalcoolic, locul de colectare a probei din Vatra Dornei; <QL = compus sub limita de cuantificare; valorile reprezintă media aritmetică ± deviația standard a trei măsurători independente ale injecțiilor replicate din același extract.

* Bota, V.B., Oláh, N.-K., Chișe, E., Burtescu, R.-F., Furtună, F.-R. P., Ivănescu, L.-C., Zamfirache, M.-M., Máthé, E., Turcuș, V., 2025 - A Comparative Analysis of the Polyphenolic Content and Identification of New Compounds from *Oenothera biennis* L. Species from the Wild Flora. *Molecules*, 30(20), 4059.



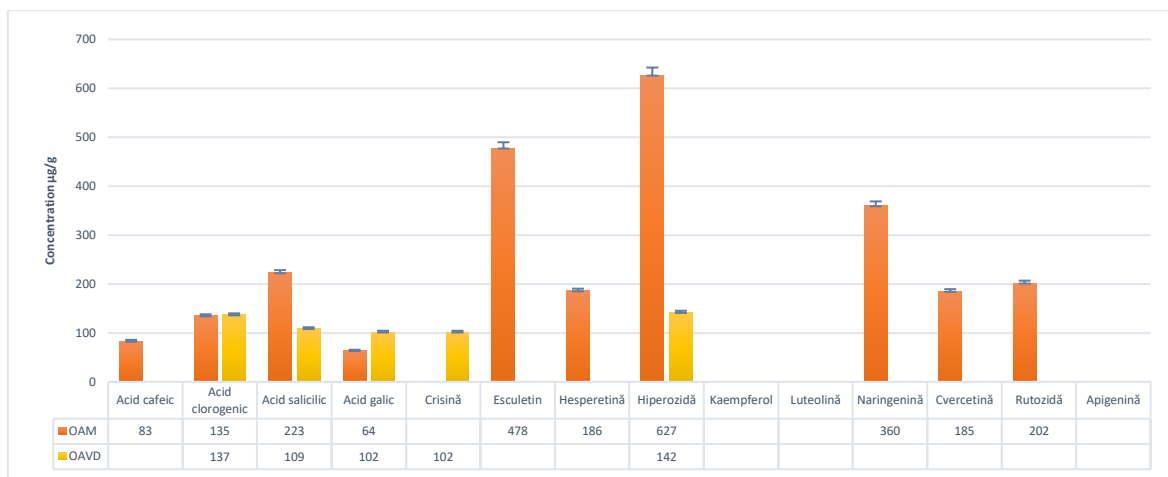
Graf. 8.1. Analiza LC/MS a extractului hidroalcoolic obținut din plante integrale de *Oenothera biennis* L. aparținând celor două populații luate în studiu - din Macea (OHM), respectiv din Vatra Dornei (OHVD).

Tabel 8.2.

Evaluarea calitativă și cantitativă a polifenolilor din extracte apoase de *Oenothera biennis* L. prin LC/MS

Nr. crt.	Compuși	Proba OAM [µg/g plantă uscată]	Proba OAVD [µg/g plantă uscată]
1	Acid cafeic	83 ± 3.0	<QL
2	Acid clorogenic	135 ± 3.3	137 ± 3.2
3	Acid salicilic	223 ± 5.5	109 ± 2.7
4	Acid galic	64 ± 1.7	102 ± 2.6
5	Apigenină	<QL	<QL
6	Crisină	<QL	102 ± 2.6
7	Esculetin	478 ± 11.9	<QL
8	Hesperetin	186 ± 4.6	<QL
9	Hiperozidă	627 ± 15.6	142 ± 3.5
10	Kaempferol	<QL	<QL
11	Luteolină	<QL	<QL
12	Naringenină	360 ± 9.0	<QL
13	Cvercetină	185 ± 4.6	<QL
14	Rutozidă	202 ± 5.0	<QL

Abrevieri: Proba OAM = extract apos, locul de colectare a probei din Macea; Proba OAVD = extract apos, locul de colectare a probei din Vatra Dornei; <QL = compus sub limita de cuantificare; valorile reprezintă media aritmetică ± deviația standard a trei măsurători independente a injecțiilor replicate din același extract.



Graf. 8.2. Analiza LC/MS a extractului apos obținut din plante integrale de *Oenothera biennis* L. aparținând celor două populații luate în studiu - din Macea (OAM), respectiv din Vatra Dornei (OAVD).

8.5. Analiza comparativă a conținutului de polifenoli din extractele de *Oenothera biennis* L. în contextul factorilor de mediu

Materialul vegetal analizat fitochimic în cazul speciei *Oenothera biennis* L. a fost recoltat în anul 2021, din zona de câmpie, la 99 m altitudine, respectiv din zona de munte, la 926 m, condițiile climatice corespunzătoare fiind prezentate în capitolul 4 și amintite la punctul 6.5. Condițiile de climă temperat-continentală, respectiv continental rece și caracterul bienal observat la indivizii luați în studiu indică apartenența populațiilor analizate în grupul de *Oenothera* originar din America de Nord. Ca urmare, plantele de *O. biennis* L. analizate sunt adaptate la condiții continentale, cu temperaturii medii mai scăzute și cantități moderate de precipitații. Cu toate că cerințele speciei față de factorii climatici sunt mai bine satisfăcute în zona de câmpie, tendințele generale de încălzire din Vatra Dornei, cu ierni mai blânde și veri mai calde au permis dezvoltarea plantelor și în zona montană. În privința factorilor edafici analizați, după cum s-a menționat și în capitolul 4, trebuie acordată atenție influenței pe care tendința de alcalinitate a solului din locațiile de recoltare, în special din zona de câmpie, o poate avea asupra compoziției polifenolice observate în cercetările prezente, luând în considerare preferințele speciei pentru solurile mai acide. Solul din locația de recoltare de la câmpie s-a caracterizat prin cantități mici de fosfor asimilabil, potasiu asimilabil și de azot total, în timp ce solul din locația de recoltare de la munte a prezentat cantități mari de potasiu asimilabil și de azot total. Acești factori pot constitui un stres suplimentar, dat fiind cerințele medii ale speciei față de indicii de troficitate a solului.

Având în vedere condițiile pedoclimatice aferente locației de recoltare de la câmpie, au fost identificați 13 polifenoli în extractul hidroalcoolic și 10 în extractul apos. Diferența

înregistrată este marcată de absența compușilor crisină, kaempferol și luteolină. Cantitativ, în primul tip de extract compusul principal a fost esculetina și cel secundar hiperozida, iar în cel din urmă compusul principal a fost hiperozida și cel secundar esculetina. Extractul hidroalcoolic este marcat de cantități mai mari de cvercetină, acid salicilic, acid cafeic și acid galic, în timp ce extractul apos este marcat de cantități mai mari de naringenină, rutozidă, acid clorogenic și hesperetină.

Prin comparație, în extractele obținute de la indivizi de *O. biennis* L. recoltați din zona de munte au fost identificați 14 polifenoli în extractul hidroalcoolic și 5 în infuzie. Esculetina a reprezentat compusul principal cantitativ din extractul hidroalcoolic, valoarea sa fiind cea mai mare dintre toate extractele analizate la această specie (1959 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată). În extractul apos compusul principal cantitativ a fost hiperozida (142 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată), dar în cantități mult mai mici decât în extractele obținute din indivizii recoltați de la câmpie. Dintre toate cele patru extracte analizate, acidul salicilic a fost în cantitatea minimă înregistrată în extractul apos OAVD, din care au lipsit majoritatea polifenolilor analizați, în schimb crisina și acidul clorogenic au fost în cantitate maximă (102 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată, respectiv 137 $\mu\text{g/g}$ plantă uscată). S-a observat prezența constantă în extractele analizate a acidului clorogenic, acidului salicilic, acidului galic și a hiperozidei. Apigenina a fost cuantificată doar în extractul hidroalcoolic obținut din plantele recoltate de la munte, sugerând o influență considerabilă indusă atât din partea factorilor de mediu cât și a metodei de extracție.

CONCLUZII

Pornind de la direcțiile de cercetare a plantelor medicinale de la nivel național și internațional din ultimele decenii, în vederea identificării de noi compuși cu valoare terapeutică și de dezvoltare a unor noi remedii medicinale, cercetările efectuate au avut ca scop caracterizarea morfo-anatomică și fitochimică a unor exemplare aparținând la patru specii de plante cu potențial medicinal din flora spontană a României: *Tussilago farfara* L., *Geranium robertianum* L., *Leonurus cardiaca* L. și *Oenothera biennis* L., recoltate din două zone geografice distincte (zona de câmpie – Macea și zona de munte – Vatra Dornei).

În acest context a fost acordată o atenție deosebită identificării organelor și structurilor vegetale implicate în producția și stocarea de compuși bioactivi în indivizii analizați, dar și influenței factorilor de mediu asupra conținutului lor de metaboliți secundari de interes terapeutic. Rezultatele astfel obținute susțin potențialul terapeutic al taxonilor luați în studiu.

În urma cercetărilor morfo-anatomice întreprinse au fost obținute descrieri complexe ale structurii, micromorfologiei și ultrastructurii organelor vegetative ale taxonilor avuți în atenție, reprezentând o noutate pentru literatura de specialitate. În plus, rezultatele TEM obținute la speciile *G. robertianum* L., *L. cardiaca* L. și *O. biennis* L. oferă date noi despre structuri precum corpurile multiveziculare și multilamelare, importante pentru înțelegerea unor procese celulare de secreție, transport și autofagie.

La plantele de *T. farfara* L. a fost obținută o primă descriere anatomică a rădăcinii adventive, a micromorfologiei și ultrastructurii rizomului, pețiolului și limbului foliar. Dintre structurile secretoare și de depozitare localizate îndeosebi la nivelul pețiolului și limbului foliar menționăm perii secretori. Analiza ultrastructurală a organelor vegetative, prima de acest fel din literatura de specialitate în cazul acestei specii, a relevat acumulări de metaboliți secundari în parenchimul cortical al rizomului, în țesutul liberian al pețiolului și în țesutul palisadic al limbului foliar. De asemenea, rezultatele completează literatura de specialitate cu date noi despre stromule, formațiuni puțin înțelese în prezent, observate pentru prima dată la această specie în celulele palisadice ale limbului foliar.

Rezultatele obținute la taxoni aparținând speciei *G. robertianum* L. oferă date importante pentru identificarea, caracterizarea și încadrarea sa taxonomică, punând în evidență elementele de variabilitate a speciei din flora spontană a României. Analizele de microscopie optică și electronică reprezintă o noutate pentru literatura de specialitate. Dintre elementele mai deosebite observate la această specie menționăm parenchimul acvifer din

structura rizomului, cele trei tipuri de peri de la nivelul tulpinii, pețiolului și limbului foliar, acumulările de taninuri din periderma și țesuturile libero-lemnoase secundare ale rădăcinii adventive, de lipide și fenoli din țesuturile liberiene, periliberiene și lemnoase secundare ale rizomului, de metaboliți secundari în hipoderma tulpinii aeriene, epiderma și hipoderma pețiolului, respectiv epiderma și țesutul palisadic al limbului foliar.

Analiza morfo-anatomică efectuată la indivizi aparținând speciei *L. cardiaca* L. oferă o primă descriere a structurii organelor subterane și a pețiolului, a ultrastructurii organelor vegetative și o primă caracterizare complexă a structurii și micromorfologiei tulpinii aeriene și limbului foliar. Rezultatele evidențiază structuri secretoare și de depozitare în parenchimul cortical și în liberul și lemnul secundar al rizomului, în parenchimul cortical și liberul secundar al tulpinii aeriene, în țesutul libero-lemnos și teaca sclerenchimatică periliberiană a pețiolului, în parenchimul lacunar al limbului foliar, respectiv șapte tipuri de peri secretori la nivelul tulpinii, pețiolului și limbului foliar. De o deosebită importanță pentru literatura de specialitate și în premieră pentru această specie sunt observațiile efectuate asupra corpurilor multiveziculare și multilamelare asociate căilor secretorii și proceselor de autofagie la plante.

Cercetările morfo-anatomice întreprinse la plantele de *O. biennis* L. completează literatura de specialitate cu o primă descriere complexă a rădăcinii, tulpinii, pețiolului și frunzei utilizând atât tehnici de microscopie optică, cât și electronică. Au fost observate structuri secretoare și de depozitare a metaboliților secundari în țesutul libero-lemnos secundar al rădăcinii și tulpinii, în parenchimul pețiolului și în țesutul lacunos al limbului foliar, respectiv peri secretori dispuși pe epiderma organelor aeriene. De o importanță aparte sunt rezultatele TEM care surprind procese de îngroșare a peretelui secundar și prezența neobișnuită a cloroplastelor și a corpurilor multilamelare în cilindrul central al tulpinii.

Analiza fitochimică a extractelor obținute din plante aparținând la câte două populații din fiecare specie luată în studiu, recoltate din flora spontană a două regiuni distincte din România (zona de câmpie – Macea, zona de munte – Vatra Dornei) a condus la identificarea în premieră pentru literatura de specialitate a unor polifenoli în aceste specii. De asemenea, rezultatele confirmă prezența unor compuși bioactivi importanți, cunoscuți în literatura de specialitate pentru acțiunile lor terapeutice, susținând astfel potențialul medicinal al taxonilor avuți în atenție. Au fost observate diferențe calitative și cantitative în conținutul de polifenoli atât între extractele apoase și hidroalcoolice, cât și între extractele obținute din indivizii aparținând populațiilor din zona de câmpie și extractele obținute din indivizii aparținând

populațiilor din zona de munte, rezultatele fiind prezentate în contextul factorilor pedoclimatici analizați din locațiile de recoltare.

Includerea în studiu numai a două populații din fiecare specie a limitat profund posibilitatea de analiză statistică și stabilirea unor corelații între conținutul de polifenoli identificați și parametrii pedoclimatici analizați. Pentru a înțelege mai bine posibilele corelații dintre factorii ecologici și variabilitatea principiilor active la taxonii avuți în atenție sunt necesare studii suplimentare, care să implice mai multe locații de recoltare a materialului vegetal, eșantioane de lucru mai mari, prelevate pe o perioadă mai lungă de timp, completate de studii genetice. În plus, o analiză calitativă și cantitativă comparativă a conținutului de polifenoli din diferite organe ale plantelor ar oferi informații valoroase privind zonele lor de biosinteză și de acumulare în materialul vegetal utilizat în prepararea produselor fitoterapeutice și farmaceutice.

Imaginile TEM realizate la materialul vegetal avut în atenție suprimă adesea formațiuni subcelulare aparte, puțin înțelese la acest moment, care urmează a fi detaliate în cercetări ce depășesc scopul și limitele prezentei teze de doctorat. Pe parcursul analizei și discutării datelor obținute practic se menționează prezența lor și se citează, pe cât posibil, referințe de specialitate de actualitate, care ar putea oferi explicații pertinente întrebărilor ce își așteaptă încă răspuns. Aceste informații conferă prezentului demers științific potențialul de a contribui la descrierea unor structuri și procese celulare de reală importanță pentru domeniul Biologiei vegetale aplicate.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

(446 / 852)

1. Abbott, G., 2024 - In search of new medicines from plants, Springer Nature. research Communities. Disponibil la: <https://communities.springernature.com/posts/in-search-of-new-medicines-from-plants>.
2. Abd-Alhaseeb, M. M., Massoud, S. M., Elsayed, F., Omran, G. A., Salahuddin, A., 2022 - Evening Primrose Oil Enhances Tamoxifen's Anticancer Activity against Breast Cancer Cells by Inducing Apoptosis, Inhibiting Angiogenesis, and Arresting the Cell Cycle. *Molecules* (Basel, Switzerland), 27(8): 2391.
3. Abd-El Maksoud, H. S., 2012 – Morphological studies on leaf, pollen grain and seed of genus *Oenothera* L. in Egypt by using scanning electron microscope "SEM". *Bull. Fac. Agric. Cairo Univ.* 63: 432-438.
4. Agnihotri, V.K., Elsohly, H.N., Smillie, T.J., Khan, I.A., Walker, L.A., 2008 - New Labdane Diterpenes from *Leonurus cardiaca*. *Planta medica*. 74(10): 1288–1290.
5. Ahmad, A., Singh, D.K., Fatima, K., Tandon, S., Luqman, S., 2014 - New constituents from the roots of *Oenothera biennis* and their free radical scavenging and ferric reducing activity. *Industrial Crops and Products*, 58, 125–132.
6. Aitani, M., Kimura H., Abiru Y., Soyama H., Murakami H., Zhang H. L., Sugishita T., Konishi Y., 2003 - Effect of an Extract from Evening-Primrose Seeds on Postprandial Blood Glucose Level and Its Active Components. *Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi*, 50(4): 180–87.
7. Akçin, Ö. E., 2019 - Morphological and anatomical characteristics of *Cichorium intybus* L., *Tragopogon latifolius* Boiss. and *Tussilago farfara* L. (Asteraceae). *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, 1(3): 81–85.
8. Akhtar, A., Ahmad, M., Mahmood, T., Khan, A. M., Arfan, M., Abbas, Q., Zafar, M., Sultana, S., Batool, R., Fatima, A., Khan, S., Aman Ullah, S., Khan, A., 2022 - Microscopic characterization of petiole anatomy of Asteraceous taxa of Western Himalaya-Pakistan. *Microscopy research and technique*, 85(2): 591–606.
9. Alhage, J, Elbitar, H., 2019 - *In vitro* screening for antioxidant and antimicrobial properties of three lebanese medicinal plants crude extracts. *Pharmacognosy Research*, 11, 127-33.
10. Ali, M.S., Ibrahim, S.A., Jalil, S., Choudhary, M.I., 2007 - Ursolic acid: A potent inhibitor of superoxides produced in the cellular system. *Phytotherapy Research*, 2: 558–561.
11. Allegra, S., De Francia, S., Turco, F., Bertaggia, I., Chiara, F., Armando, T., Storto, S., Mussa, M. V., 2023 - Phytotherapy and Drugs: Can Their Interactions Increase Side Effects in Cancer Patients? *Journal of xenobiotics*, 13(1), 75–89.
12. Amaral, S., Mira, L., Nogueira, J.M.F., Silva, A.P., Florêncio, M.H., 2009 - Plant extracts with antiinflammatory properties - A new approach for characterization of their bioactive compounds and establishment of structure–antioxidant activity relationships. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17, 1876–1883.
13. Andjic, M., Draginic, N., Radoman, K., Jeremic, J., Turnic, T. N., Srejovic, I., Zivkovic, V., Kovacevic, M., Bolevich, S., Jakovljevic, V., 2021 - Flaxseed and evening primrose oil slightly affect systolic and diastolic function of isolated heart in male but not in female rats. *International journal for vitamin and nutrition research. Internationale Zeitschrift fur Vitamin- und Ernährungsforschung. Journal international de vitaminologie et de nutrition*, 91(1-2) : 99–107.
14. Angeloni, S., Spinozzi, E., Maggi, F., Sagratini, G., Caprioli, G., Borsetta, G., Ak, G., Sinan, K. I., Zengin, G., Arpini, S., Mombelli, G., Ricciutielli, M., 2021 - Phytochemical Profile and Biological Activities of Crude and Purified *Leonurus cardiaca* Extracts. *Plants* (Basel, Switzerland), 10(2), 195.
15. ANM [Administrația Națională de Meteorologie]. *Clima României*; Editura Academiei Române: Bucharest, Romania, 2008.
16. Apostu M., Tantar, G., Vieriu, M., Panainte, A. D., Bibire, N., Agoroaei, L., 2017 – Evaluation of reducing effect of several vegetable extracts on the digestive bioavailability of heavy metals, *Revista de Chimie*, 68(4): 683-686.

17. Ardelean, A., Mohan, G., 2008 - Flora medicinală a Romaniei. Ed. ALL, Bucuresti, p.33.
18. Arimura, T., Kojima-Yuasa, A., Kennedy, D. O., Matsui-Yuasa, I., 2004 - Reactive oxygen species-independent G1 arrest induced by evening primrose extract in Ehrlich ascites tumor cells. *Cancer letters*, 207(1): 19–25.
19. Arimura, T., Kojima-Yuasa, A., Suzuki, M., Kennedy, D. O., Matsui-Yuasa, I., 2003b - Caspase-independent apoptosis induced by evening primrose extract in Ehrlich ascites tumor cells. *Cancer letters*, 201(1): 9–16.
20. Arimura, T., Kojima-Yuasa, A., Tatsumi, Y., Kennedy, D. O., Matsui-Yuasa, I., 2005 - Involvement of polyamines in evening primrose extract-induced apoptosis in Ehrlich ascites tumor cells. *Amino acids*, 28(1): 21–27.
21. Arimura, T., Kojima-Yuasa, A., Watanabe, S., Suzuki, M., Kennedy, D. O., Matsui-Yuasa, I., 2003a - Role of intracellular reactive oxygen species and mitochondrial dysfunction in evening primrose extract-induced apoptosis in Ehrlich ascites tumor cells. *Chemico-biological interactions*, 145(3): 337–347.
22. Arisaka, M., Arisaka O., Yamashiro Y., 1991 - Fatty Acid and Prostaglandin Metabolism in Children with Diabetes Mellitus. II. — The Effect of Evening Primrose Oil Supplementation on Serum Fatty Acid and Plasma Prostaglandin Levels. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 43(3): 197–204.
23. Armatu, A., Colceru-Mihul S., Bubueanu C., Draghici E., Pirvu L., 2010 -Evaluation of antioxidant and free scavenging potential of some Lamiaceae species growing in Romania. *Romanian Biotechnological Letters*, 15(3): 5274–5280.
24. Arnold, E., Benz, T., Zapp, C., Wink, M., 2015 - Inhibition of Cytosolic Phospholipase A2 α (cPLA2 α) by Medicinal Plants in Relation to Their Phenolic Content. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 20(8), 15033–15048.
25. Arslan, M. E., Yilmaz, A., 2023 - Neuroprotective effects of *Geranium robertianum* L. aqueous extract on the cellular Parkinson's disease model. *European review for medical and pharmacological sciences*, 27(2), 570–579.
26. Avila, C., Breakspear, I., Hawrelak, J., Salmond, S., Evans, S., 2020 - A systematic review and quality assessment of case reports of adverse events for borage (*Borago officinalis*), coltsfoot (*Tussilago farfara*) and comfrey (*Symphytum officinale*). *Fitoterapia*, 142, 104519.
27. Avila, M. B., de Lucio, J. A. G., Mendoza, N. V., Gonzales, C. V., De La O Arciniega, M., Vargas, G. A., 2013 - *Geranium* species as antioxidants, oxidative stress and chronic degenerative diseases - a role for antioxidants. Chapter 5. In: *InTech*, p. 113–29.
28. Baker, H. G., 1956 – *Geranium purpureum* Vill. and *G. robertianum* L. in the British flora II. *Geranium robertianum*. *Watsonia*, 3, 270-279.
29. Balch, S. A., 2000 – Evaluation of native evening primrose for gamma-linolenic acid. A dissertation in Agronomy, Graduate Faculty of Texas Tech University. Bell&Howell, United States.
30. Barkley, T.M., 2006 - *Tussilago* Linnaeus, Sp. Pl. 2: 865. 1753; Gen. Pl. ed. 5, 372. 1754. În: Editorial Committee, (ed.). *Flora of North America North of Mexico*, Volume 19: Asteraceae. On-Line Version; New York, NY, USA; Oxford, UK; pp. 20–21.
31. Bartlam, M., Sun, X., Kang, J., Liu, F., Wang, P., Ma, J., Zhou, H., Jin, D. Q., Ohizumi, Y., Lee, D., Bartlam, M., Guo, Y., 2017 - Chemical and biological profiles of *Tussilago farfara*: Structures, nitric oxide inhibitory activities, and interactions with iNOS protein. *Journal of Functional Foods*, 1(32): 37–45.
32. Bate-Smith, E. C., 1962 - The phenolic constituents of plants and their taxonomic significance. I. Dicotyledons. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 58, 95–173.
33. Bate-Smith, E.C., 1973 - Systematic distribution of ellagitannins in relation to the phylogeny and classification of the angiosperms, În: Bendz, G.; Santesson, J. (Ed.), *Medicine and Natural Sciences: Chemistry in botanical classification*, Academic Press, New York, pp. 93–102.
34. Bautista, M., Madrigal-Santillan, E., Morales-Gonzalez, A., Gayosso-De-Lucio, J.A., Madrigal-Bujaidar, E., Chamorro-Cevallos, G., Alvarez-Gonzalez, I., Benedi, J., Aguilar-Faisal, J.L., Morales-Gonzalez, J.A., 2015 - An alternative hepatoprotective and antioxidant agent: the *Geranium*. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 12(4): 96-105.

35. Bawish, B. M., Rabab, M. A., Gohari, S. T., Khattab, M. S., AbdElkader, N. A., Elsharkawy, S. H., Ageez, A. M., Zaki, M. M., Kamel, S., Ismail, E. M., 2023 - Promising effect of *Geranium robertianum* L. leaves and Aloe vera gel powder on Aspirin®-induced gastric ulcers in Wistar rats: anxiolytic behavioural effect, antioxidant activity, and protective pathways. *Inflammopharmacology*, 31(6), 3183–3201.
36. Ben Jemia, M., Aidi Wannes, W., Ouchikh, O., Bruno, M., Kchouk, M. E., 2013 - Antioxidant activity of Tunisian *Geranium robertianum* L. (Geraniaceae). *Natural product research*, 27(22), 2076–2083.
37. Birch, A. E., Fenner, G. P., Watkins, R., Boyd, L. C., 2001 - Antioxidant properties of evening primrose seed extracts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(9): 4502–4507.
38. Bnouham, M., Legssyer, A., Mekhfi, H., Ziyat, A., 2002 - Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *International Journal of Diabetes and Metabolism*, 10(1): 33–50.
39. Borchardt, J. R., Wyse, D. L., Sheaffer, C. C., Kauppi, K. L., Fulcher, R. G., Ehlke, N. J., Biesboer, D. D., Bey, R. F., 2009 - Antioxidant and antimicrobial activity of seed from plants of the Mississippi river basin. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(10): 707-718.
40. Borges, C.V., Minatel, I.O., Gomez-Gomez, H.A., Lima, G.P.P., 2017 - Medicinal Plants: Influence of Environmental Factors on the Content of Secondary Metabolites. În: Ghorbanpour, M., Varma, A. (ed.), *Medicinal Plants and Environmental Challenges*. Springer, Cham.
41. Bota, V. B., Neamtu, A.-A., Olah, N.-K., Chișe, E., Burtescu, R. F., Pripon Furtuna, F. R., Nicula, A.-S., Neamtu, C., Maghiar, A.-M., Ivănescu, L.-C., Zamfirache, M.-M., Mathe, E., Turcuș, V., 2022 - A Comparative Analysis of the Anatomy, Phenolic Profile, and Antioxidant Capacity of *Tussilago farfara* L. Vegetative Organs. *Plants*, 11(13), 1663.
42. Bota, V.B., Ardelean, A., Olah, N., Toma, Constantin., Turcuș, V., 2018 - Morpho-anatomical study of *Tussilago farfara* L. species. *Acta Medica Marisiensis*. 64, S3: 19.
43. Bota, V.B., Olah, N.K., Chișe, E., Arsene, G.-G., Zamfirache, M.-M., Turcuș, V. 2022b. Etude des structures morpho-anatomiques productrices de principes actifs utilisés en pharmacologie chez *Geranium robertianum* L., *Bulletin de la Société Française d'Ethnopharmacologie et de la Société Européenne d'Ethnopharmacologie/ Dossier spécial « Médecine traditionnelle de Roumanie »* 66, Fleurentin Jacques, Kessler-Bilthauer Deborah, Weniger Bernard, Les Sociétés, Metz, France, ISSN 1261-4572.
44. Bota, V.B., Turcuș, V., Mihali, C. V., Ivănescu, C. L., Zamfirache, M.M., 2022c - A first report on the anatomical structure of underground organs of *Leonurus cardiaca* L. species, *Studia Universitatis „Vasile Goldiș” Seria Științele Vieții*, 32(3): 99-106 (publicat la data 25.04.2025).
45. Bota, V.B., Turcuș, V., Mihali, C.V., Arsene, G.-G., Ivănescu, L.C., Zamfirache, M.-M., 2020 - Anatomical investigations on *Oenothera biennis* L. using optical microscopy and scanning electron microscopy (SEM), *Research Journal of Agricultural Science* 52(1): 61-71.
46. Botineau, M., 2013 - Guide des plantes comestibles de France, Humensis, p. 21.
47. Boucher, M. A., Côté, H., Pichette A., Ripoll L., Legault J., 2020 - Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Tussilago farfara* (L.) Essential Oil from Quebec, Canada. 34(4): 545–548.
48. Bozchaloyi E. S., Zaman, W., 2018 - Taxonomic significance of macro and micro-morphology of *Geranium* L. species Using Scanning Electron Microscopy. *Microscopy research and technique*, 81(12), 1520–1532.
49. Bozchaloyi, E., Sheidai, S., Keshavarzi, M. M., Noormohammadi, Z., 2017 - Species delimitation in *Geranium* sect. *Batrachioidea*: morphological and molecular. *Acta Botanica Hungarica*, 59(3-4), 319-334.
50. Bray, D., 2000 - Critical Point Drying of Biological Specimens for Scanning Electron Microscopy. În: Williams, J.R., Clifford, A.A. (ed.) *Supercritical Fluid Methods and Protocols. Methods In Biotechnology™*, vol 13. Ed. Humana Press.
51. Britton, N.L., Brown, A., 1898 - An Illustrated Flora of the Northern United States, Canada and the British Possessions. Vol 1. New York, NY: Charles Scribner & Sons.

52. Bryson, C.T., DeFelice, M.S., 2010 - Weeds of the Midwestern United States and Central Canada. Athens, GA: University of Georgia Press. p. 427.
53. Budinčević, M., Vrbaški, Z., Turkulovxyc, J., Dimić, E., 1995 - Antioxidant Activity of *Oenothera biennis* L. European Journal of Lipid Science and Technology, 97(7-8): 277-280.
54. Calapai, G., Minciullo, P. L., Miroddi, M., Chinou, I., Gangemi, S., Schmidt, R. J., 2015 - Contact dermatitis as an adverse reaction to some topically used European herbal medicinal products - Part 3: *Mentha × piperita* - *Solanum dulcamara*. Contact dermatitis, 74(3): 131–144.
55. Cameron, N. E., Cotter M. A., Robertson S., 1991 - Essential Fatty Acid Diet Supplementation: Effects on Peripheral Nerve and Skeletal Muscle Function and Capillarization in Streptozocin-Induced Diabetic Rats. Diabetes, 40 (5): 532–39. 01.
56. Cameron, N. E., Cotter, M. A., Robertson, S., 1991 - Essential Fatty Acid Diet Supplementation: Effects on Peripheral Nerve and Skeletal Muscle Function and Capillarization in Streptozocin-Induced Diabetic Rats. Diabetes, 40(5): 532–39.
57. Catarino, M.D., Silva, A.M.S., Cruz, M.T., Cardoso, S.M., 2017 - Antioxidant and anti-inflammatory activities of *G. robertianum* decoctions. Foods Functions. 8(9): 3355–65.
58. Catarino, M.D., Silva, A.M.S., Cruz, M.T., Cardoso, S.M., 2017 - Antioxidant and anti-inflammatory activities of *G. robertianum* decoctions. Foods Functions. 8(9): 3355–65.
59. Chapman, M., Mulcahy, D., L., 1997 - Confocal optical sectioning for meiotic analysis in *Oenothera* species and hybrids. Biotechniques and Histochemistry, 72 (2): 105-110.
60. Chaudhary, T., Chahar, A., Sharma, J. K., Kaur, K., Dang, A., 2015 - Phytomedicine in the Treatment of Cancer: A Health Technology Assessment. Journal of clinical and diagnostic research: JCDR, 9(12), XC04–XC09.
61. Chelghoum, M., Guenane, H., Tahri, D., Laggoun, I., Marfoua, F.Z., Rahmani, F. Z., Khenifer, F., Yousfi, M., 2021 - Influence of altitude, precipitation, and temperature factors on the phytoconstituents, antioxidant, and α -amylase inhibitory activities of *Pistacia atlantica*. Food Measure, 15, 4411–4425.
62. Chelghoum, M., Guenane, H., Tahri, D., Laggoun, I., Marfoua, F.Z., Rahmani, F.Z., Khenifer, F., Yousfi, M., 2021 - Influence of altitude, precipitation, and temperature factors on the phytoconstituents, antioxidant, and α -amylase inhibitory activities of *Pistacia atlantica*. Journal of Food Measurement and Characterization, 15, 4411–4425.
63. Chen, S., Dong, L., Quan, H., Zhou, X., Ma, J., Xia, W., Zhou, H., Fu, X., 2021 - A review of the ethnobotanical value, phytochemistry, pharmacology, toxicity and quality control of *Tussilago farfara* L. (coltsfoot). Journal of ethnopharmacology, 267, 113478.
64. Cheng, H., Bo, Y., Shen, W., Tan, J., Jia, Z., Xu, C., Li, F., 2015 - Leonurine ameliorates kidney fibrosis via suppressing TGF- β and NF- κ B signaling pathway in UUO mice. International immunopharmacology, 25(2), 406–415.
65. Cheon, H. J., Nam, S. H., Kim, J. K., 2018 - *Tussilagone*, a Major Active Component in *Tussilago farfara*, Ameliorates Inflammatory Responses in Dextran Sulphate Sodium-Induced Murine Colitis. Chemico-Biological Interactions, 294: 74–80.
66. Cheryatova, Yu. S., 2014 - Microscopic examination of the leaves of *Oenothera biennis* L. In: Proc. International Scientific and Practical, Abstract Book in 11 parts, Tambov, Russia, pp. 148–150.
67. Chevallier, A., 1996 - The Encyclopedia of Medicinal Plants, Dorling Kindersley Ltd, London, p. 214.
68. Chiang, Y. W., Yeh, C. F., Yen, M. H., Lu, C. Y., Chiang, L. C., Shieh, D. E., Chang, J. S., 2017 - *Flos Farfarae* Inhibits Enterovirus 71-Induced Cell Injury by Preventing Viral Replication and Structural Protein Expression. The American Journal of Chinese Medicine, 45(2): 299–317.
69. Chikov, P.S., 1983 - Atlas of areas and resources of medicinal plants of the USSR (Russian), Moscow, p. 292.

70. Chmielewska-Kassassir, M., Sobierajska, K., Ciszewski, W. M., Kryczka, J., Zieleniak, A., Wozniak, L. A., 2023 - Evening Primrose Extract Modulates TYMS Expression via SP1 Transcription Factor in Malignant Pleural Mesothelioma. *Cancers*, 15(20): 5003.
71. Cho, J., Kim, H. M., Ryu, J. H., Jeong, Y. S., Lee, Y. S., Jin, C., 2005 - Neuroprotective and Antioxidant Effects of the Ethyl Acetate Fraction Prepared from *Tussilago farfara* L. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 28(3): 455–460.
72. Chytrý M., Tichý L., Dřevojan P., Sádlo J. Zelený D., 2018 - Ellenberg-type indicator values for the Czech flora. – *Preslia* 90: 83–103.
73. Ciszewski, W. M., Włodarczyk, J., Chmielewska-Kassassir, M., Fichna, J., Wozniak, L. A., Sobierajska, K., 2022 - Evening primrose seed extract rich in polyphenols modulates the invasiveness of colon cancer cells by regulating the TYMS expression. *Food & function*, 13(21): 10994–11007.
74. Conea, S., Voştinuaru, O., Mogoşan, C., Toma, C.C., Cuc Hepcal, I., Morgovan, C., Vlase, L., 2016 -Polyphenolic profile and anti-inflammatory activity of two extracts from *Tussilago farfara* leaves and *Cichorium intybus* roots. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 20(3): 5–11.
75. Couplan F., Duke J., 1998 - The Encyclopedia of Edible Plants of North America, McGraw Hill Professional, p. 315.
76. Crăciun, C., 2010 - Suport de curs pentru Școala Doctorală – Microscopia electronică, Universitatea „Babeș Bolyai” Cluj-Napoca.
77. Cseke J.L., Kirakosyan A., Kaufman B.P., Warber L.S., Duke A.J., Briemann L.H., 2006 - Natural products from Plants, Second Edition. Taylor and Francis Ltd.
78. Cunha, A. P., Silva, A. P., Roque, A. R., 2009 - Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa, Portugal.
79. Cybulska, P., Thakur, S. D., Foster, B. C., Scott, I. M., Leduc, R. I., Arnason, J. T., Dillon, J.-A. R., 2011 - Extracts of Canadian First Nations Medicinal Plants, Used as Natural Products, Inhibit Neisseria gonorrhoeae Isolates With Different Antibiotic Resistance Profiles. *Sexually Transmitted Diseases*, 38(7): 667–671.
80. Danilets, M. G., Yu P. Bel'skii, A. M. Gur'ev, M. V. Belousov, N. V. Bel'skaya, E. S. Trofimova, E. G. Uchasova, *et al.*, 2010 - Effect of Plant Polysaccharides on TH1-Dependent Immune Response: Screening Investigation. *Ekspierimental'naia i Klinicheskaia Farmakologiya*, 73(6): 19–22.
81. De la Cruz, J. P., Martin-Romero, M., Carmona, J. A., Villalobos, M. A., Sanchez de la Cuesta, F., 1997 - Effect of Evening Primrose Oil On Platelet Aggregation in Rabbits Fed an Atherogenic Diet.” *Thrombosis Research*, 87(1): 141–49.
82. de Vos, O.C., 1981 - Ontogeny and vascularisation of the flower of *Oenothera* (Onagraceae). *Acta Botanica Neerlandica*, 30(3): 219–229.
83. Dehelean, C. A., Pinzaru, I. A., 2024 - Managementul plantelor medicinale – de la cultivare la siguranța consumatorilor, Ed. „Victor Babeș”, Timișoara, pp. 11-14.
84. Della Beffa, M.T., 1999 - Fiori di Campo, Istituto Geografico De Agostini, p.320.
85. Dénes, A., Papp, N., Babai, D., Czúcz, B., Molnár, Z., 2012 - Wild plants used for food by Hungarian ethnic groups living in the Carpathian Basin. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 81(4): 381-396.
86. Deng, YC., Hua, HM., Li, J., Lapinskas, P. 2001 - Studies on the cultivation and uses of evening primrose (*Oenothera* spp.) in China. *Economic Botany*, 55, 83–92.
87. Dietrich, W., Wagner, W. L., Raven, P. H., 1997 - Systematics of *Oenothera* Section *Oenothera* Subsection *Oenothera* (Onagraceae). În: *Systematic Botany Monographs*, Volume 50, The American Society of Plant Taxonomists, USA.
88. Dines, K. C., Cotter, M. A., Cameron, N. E., 1995 - Nerve Function in Galactosaemic Rats: Effects of Evening Primrose Oil and Doxazosin. *European Journal of Pharmacology*, 281(3): 303–9.

89. Ding, M., Li, Z., Yu, X. A., Zhang, D., Li, J., Wang, H., He, J., Gao, X. M., Chang, Y. X., 2018 - A Network Pharmacology-Integrated Metabolomics Strategy for Clarifying the Difference between Effective Compounds of Raw and Processed *Farfarae Flos* by Ultra High-Performance Liquid Chromatography-Quadrupole-Time of Flight Mass Spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 156, 349–357.
90. Dioscorides, 50 d. Hr. – *De Materia Medica*, p. 362.
91. Directiva 92/43/CEE a Consiliului din 21 mai 1992 privind conservarea habitatelor naturale și a speciilor de faună și floră sălbatică <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/RO/TXT/?uri=celex%3A31992L0043> [Accesat la data 10.08.2020].
92. Dogan, Y., Nedelcheva, A., Łuczaj, Ł., Drăgulescu, C., Stefkov, G., Maglajlić, A., Ferrier, J., Papp, N., Hajdari, A., Mustafa, B., Dajić-Stevanović Z., Pieroni, A., 2015 - Of the importance of a leaf: the ethnobotany of sarma in Turkey and the Balkans, *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 11, 26.
93. Dong, J., Ma, X., Wei, Q., Peng, S., Zhang, S., 2011 - Effects of growing location on the contents of secondary metabolites in the leaves of four selected superior clones of *Eucommia ulmoides*. *Industrial Crops and Products*, 3, 1607–1614.
94. Doormaal, J. J. van, Idema I. G., Muskiet F. A. J., Martini I. A., Doorenbos H., 1988 - Effects of Short-Term High Dose Intake of Evening Primrose Oil on Plasma and Cellular Fatty Acid Compositions, α -Tocopherol Levels, and Erythropoiesis in Normal and Type 1 (Insulin-Dependent) Diabetic Men. *Diabetologia*, 31(8): 576–84.
95. Drăgulescu C., 2018 – Dictionar de fitonime Românești, Ediția a-5-a completată, Ed. Universității „Lucian Blaga”, Sibiu, p. 81.
96. Drăgulescu, R., 2013 - Considerații lingvistice cu privire la fitonimele românești create cu ajutorul termenului „urs”, Ed. Universității „Lucian Blaga”, Sibiu, pp. 234-247.
97. Drăgulescu, R., Drăgulescu C., 2000 - Contribuții la cunoașterea limbii geto-dacilor. Denumirile dacice de plante, Ed. Universității „Lucian Blaga”, Sibiu, p. 517.
98. Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi S. F., Nabavi S. M., Pourmorad F., 2010b - Nitric oxide radical scavenging potential of some Elburz medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 9(32): 5212–5217.
99. Egnér, H., Riehm, H., Domingo, W.R., 1960 - Untersuchungen über die chemische Bodenanalyse als Grundlage für die Beurteilung des Nährstoffzustandes der Boden. II. Chemische Extraktionsmethoden zur Phosphorund Kaliumbestimmung. *Kunglia Lantbrukshogskolans Annaler*, 26, 199-215.
100. Ellenberg, H., Weber, H.E., Düll, R., Wirth, V., Werner, W., Paulißen, D., 1992 - Zeigerwerte von Pflanzen in Mittel-europa, 2nd ed., Scr. Geobot. 18: 1-258.
101. Ellenberg, H., Weber, H.E., Düll, R., Wirth, V., Werner, W., Paulißen, D., 1991 - Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa. *Scripta Geobotanica*, XVIII, 1–248.
102. EMA (European Medicines Agency), (HMPC) Committee on herbal Medicinal Products, Keller, K., 2010 - Assessment Report on *Leonurus cardiaca* L., Herba. Vol. 127430/201. London. www.ema.europa.eu.
103. EMA [European Medicines Agency], 2018a - Assessment report on *Oenothera biennis* L. or *Oenothera lamarckiana* L., oleum. 5 June 2018 EMA/HMPC/753042/2017 Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC), London, United Kingdom.
104. EMA [European Medicines Agency], 2018b - European Union herbal monograph on *Oenothera biennis* L. or *Oenothera lamarckiana* L., oleum. 5 June 2018 EMA/HMPC/753041/2017 Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC), London, United Kingdom.
105. Enache, M., Dănilă-Guidea, S. M., Hangan, M., 2021 – Comparative study of light microscopy images of pollen from 3 Onagraceae species. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, Vol. XXV, No. 1, 175-180.
106. Endress P. K., 2010 - Synorganisation without organ fusion in the flowers of *Geranium robertianum* (Geraniaceae) and its not so trivial obdiplostemony. *Annals of botany*, 106(5): 687–695.

107. Evans, S., Avila, C., Breakspear, I., Hawrelak, J., Salmond, S., 2019 - Report on the Safety of the Oral Consumption of the Pyrrolizidine Alkaloid Containing Herbs *Symphytum officinale*, *Tussilago farfara* and *Borago officinalis*.
108. Facciola, S., 1998 - *Cornucopia II*, Kampong Publications, California. ISBN: 0-9628087-2-5.
109. Fan, Y.-Y., Chapkin, R. S., Ramos, K. S., 1996 - Dietary Lipid Source Alters Murine Macrophage/Vascular Smooth Muscle Cell Interactions *in Vitro*. *The Journal of Nutrition*, 126(9): 2083–2088.
110. Fan, Y.-Y., Ramos K. S., Chapkin R. S., 2001 - Dietary γ -Linolenic Acid Suppresses Aortic Smooth Muscle Cell Proliferation and Modifies Atherosclerotic Lesions in Apolipoprotein E Knockout Mice. *The Journal of Nutrition*, 131(6): 1675–81.
111. Fang, C., Jiang, Z., Tomlinson D.R., 1997 - Expression of Constitutive Cyclo-Oxygenase (COX-1) in Rats with Streptozotocin-Induced Diabetes; Effects of Treatment with Evening Primrose Oil or an Aldose Reductase Inhibitor on COX-1 mRNA Levels. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 56(2): 157–63.
112. Farag, M. A., Reda, A., Nabil, M., Elimam, D. M., Zayed, A., 2023 - Evening primrose oil: a comprehensive review of its bioactives, extraction, analysis, oil quality, therapeutic merits, and safety. *Food & function*, 14(18): 8049–8070.
113. Farcas, S.C.C.B., 2018 - Erba Roberta (*Geranium robertianum* L.) Năpraznic sau Iarba Sfântului Robert. [online] 'La Miranda' (Da Miranda) tra storia, arte, cultura, cibo, cultura e tradizioni, nel cuore verde dell'Italia. Disponibile la: <https://lamirandaorte.wordpress.com/2018/05/15/erba-roberta-geranium-robertianum-l-napraznic-sau-iarba-sfantului-robert/> [Accesat la 20.06.2023].
114. Farmacopeea Europeană (European Pharmacopoeia), 2021 - EDQM IX; Council of Europe: Strasbourg, France.
115. Fecker, R., Buda, V., Alexa, E., Avram, S., Pavel, I. Z., Muntean, D., Cocan, I., Watz, C., Minda, D., Dehelean, C. A., Soica, C., Danciu, C., 2020 - Phytochemical and Biological Screening of *Oenothera biennis* L. Hydroalcoholic Extract. *Biomolecules*, 10(6): 818.
116. Ferreira, F.M., Peixoto, F., Nunes, E., Sena, C., Seíça, R. Santos, M.S., 2010a - 'MitoTea': *Geranium robertianum* L. decoctions decrease blood glucose levels and improve liver mitochondrial oxidative phosphorylation in diabetic Goto-Kakizaki rats. *Acta Biochimica Polonica*, 57(4).
117. Fierascu, R. C., Fierascu I., Ortan, A., Fierascu, I. C., Anuta, V., Velescu, B. S., Pituru, S. M., Dinu-Pirvu, C. E., 2019 - *Leonurus cardiaca* L. as a source of bioactive compounds: An Update of the European Medicines Agency Assessment Report (2010). Edited by Francesca Mancianti. *BioMed Research International* 2019 (April): 1–13.
118. Flemmig, J., Noetzel I., Arnhold J., Rauwald H.-W., 2015 - *Leonurus cardiaca* L. herb extracts and their constituents promote lactoperoxidase activity. *Journal of Functional Foods*, 17, 328–339.
119. Flora of China @ eFloras 2008 - Missouri Botanical Garden, St. Louis, MO & Harvard University Herbaria, Cambridge, MA. Published on the Internet: http://www.efloras.org/flora_page.aspx?flora_id=2
120. FOC [Flora of China] http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=2&taxon_id=200012398 [Accesat la data 27.01.2023].
121. Fodorea, C.S., Vlase, L., Suci, S., Tamas, M., Leucuta, S. E., Bersan, L., 2004 - HPLC study on some polyphenols of *Geranium macrorrhizum* L. (Geraniaceae). „Ovidius” University Annals of Medical Science - Pharmacy, II(2): 70-73.
122. FOP [Flora de Panama] <http://www.tropicos.org/Name/40030838?projectid=56>
123. FOP [Flora of Pakistan] <http://www.tropicos.org/Name/13900019?projectid=32> [Accesat la data 27.01.2023].
124. FOP [Flora of Pakistan] <http://www.tropicos.org/Name/17600111?projectid=32> [Accesat la data 14.07.2023].
125. Ford, I., Cotter, M. A., Cameron, N. E., Greaves, M., 2001 - The Effects of Treatment with [Alpha]-Lipoic Acid or Evening Primrose Oil on Vascular Hemostatic and Lipid Risk Factors, Blood Flow, and Peripheral Nerve Conduction in the Streptozotocin-Diabetic Rat. *Metabolism*, 50(8): 868–75.
126. Fragoso, Y. D., Skinner, E. R., 1992 - The effect of gammalinolenic acid on the subfractions of plasma high density lipoprotein of the rabbit. *Biochemical pharmacology*, 44(6): 1085–1090.

127. Fukushima, M., Matsuda, T., Yamagishi, K., Nakano, M., 1997 - Comparative Hypocholesterolemic Effects of Six Dietary Oils in Cholesterol-fed Rats after Long-term Feeding. *Lipids*, 32(10): 1069–74.
128. Gaffal, K. P., 2007 - Fragments of the marginal teeth in pulverized drugs of coltsfoot leaves (*Tussilago farfara*) and butterbur leaves (*Petasites hybridus*) facilitate the proof of their identity. *Zeit Schrift Fur Arznei - & Gewurzpflanzen*, 21(1): 42-44.
129. Gao, H., Huang, Y., Gao, B., Xu, P., Inagaki, C., Kawabata, J., 2008 - α -Glucosidase Inhibitory Effect by the Flower Buds of *Tussilago farfara* L. *Food Chemistry*, 106(3): 1195–1201.
130. Gebarowska, E., Politowicz, J., Szumny, A., 2017 - Chemical composition and antimicrobial activity of *Geranium robertianum* L. essential oil. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 74(2), 699–705.
131. Georgescu, L., Antemir, A., 2002 - Free Radical Scavenger Activity Determined by GC/MS Method. *Science Direct Working Paper*, no. NO S1574-0331(04)70862-0. <https://ssrn.com/abstract=2969638>.
132. Ghasemnezhad, A., Mousavizadeh, S. J., Mashayekhi, K., 2011 - A study on evening-primrose (*Oenothera biennis* L.) callus regeneration and somatic embryogenesis. *Iranian Journal of Biotechnology*, 9(1): 31-36.
133. Ghosh, J., Middy, M., Maity, D., 2017 - *Tussilago farfara* L. A promising ethnomedicinal plant of Sikkim. *Exploratory Animal and Medical Research* 7, 100–103.
134. Gleason, H. A., Cronquist, A. J., 1991 - Manual of vascular plants of northeastern United States and adjacent Canada. lxxv + 910 pp.
135. Graça V.C., Barros L., Calhelha R.C., Dias M.I., Carvalho A.M., Santos-Buelga C., Santos, P. F., Ferreira, I. C. F. R., 2016a - Chemical characterization and bioactive properties of aqueous and organic extracts of *Geranium robertianum* L. *Food& Function*, 7(9):3807–14.
136. Graça, V. C., Barros, L., Calhelha, R. C., Dias, M. I., Ferreira, I. C. F. R., Santos, P.F., 2017 - Bio-guided fractionation of extracts of *Geranium robertianum* L.: Relationship between phenolic profile and biological activity *Industrial Crops and Products*, 108, 543-552.
137. Graça, V.C., Ferreira, I.C.F.R., Santos, P.F., 2016b - Phytochemical composition and biological activities of *Geranium robertianum* L.: A review. *Industrial Crops and Products*, 87, 363–378.
138. Granica, S., Czerwinska, M. E., Piwowarski, J. P., Ziąja M., Kiss, A. K., 2013 - Chemical composition, antioxidative and anti-inflammatory activity of extracts prepared from aerial parts of *Oenothera biennis* L. and *Oenothera paradoxa* Hudziok obtained after seed cultivation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(4): 801-810.
139. Greuter, W., 2006+ - Compositae (Pro Parte Majore). In *Compositae. Euro+Med Plantbase—The Information Resource for Euro- Mediterranean Plant Diversity*; Greuter, W., von Raab-Straube, E., Eds.; 2006, <http://www.theplantlist.org/> [Accessed la 10.11.2021].
140. Grime, J.P., Hodgson, J.G., Hunt, R., 1988 - Comparative Plant Ecology. Allen & Unwin, London, UK.
141. Gwynn J., Hylands P. J., 2000 - Plants as a source of new medicines. *Natural Products. Drug Discovery World Summer*, 2000: 54-59.
142. Hall, I. V., Sreenn, E., Threadgill, P., Jones, R. W., 1988 - The biology of Canadian weeds. 84. *Oenothera biennis* L. *The Canadian Journal of Plant Science*, 68: 163-173.
143. Hamburger, M., Riese, U., Graf, H., Melzig, M. F., Ciesielski, S., Baumann, D., Dittmann, K., Wegner, C., 2002 - Constituents in evening primrose oil with radical scavenging, cyclooxygenase, and neutrophil elastase inhibitory activities. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(20): 5533–5538.
144. Hather, J., G., 1988 – The morphological and anatomical interpretation and identification of charred vegetative parenchymatous plant remains, Ph. D. Thesis, Institute of Archeology, University College London, 221-222.
145. Hather, J., G., 1988 – The morphological and anatomical interpretation and identification of charred vegetative parenchymatous plant remains, Ph. D. Thesis, Institute of Archeology, University College London, 221-222.
146. Hayat, M. A., 2000 - Principles and Techniques of Electron Microscopy: Biological Applications, Fourth Edition, Ed. Cambridge University Press.

147. Head, R. J., McLennan, P. L., Raederstorff, D., Muggli, R., Burnard, S. L., McMurchie, E. J., 2000 - Prevention of Nerve Conduction Deficit in Diabetic Rats by Polyunsaturated Fatty Acids. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(1): 386S-392S.
148. Hegnauer, R., 1966 - *Chemotaxonomie der Pflanzen. Eine übersicht über die verbreitung und die systematische bedeutung der pflanzenstoffe*, Springer, Basel.
149. Herrick, J.W., 1977 - *Iroquois Medical Botany*, Ph. D. State University of New York at Albany, College of Arts and Sciences, Department of Anthropology.
150. Hersch-Martínez, P., Leaños-Miranda, B. E., Solórzano-Santos, F., 2005 - Antibacterial effects of commercial essential oils over locally prevalent pathogenic strains in Mexico. *Fitoterapia*, 76(5): 453–457.
151. Hleba, L., Vuković, N., Horská, E., Petrová, J., Sukdolak, S., Kačániová, M., 2014 - Phenolic Profile and Antimicrobial Activities to Selected Microorganisms of Some Wild Medical Plant from Slovakia. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(4): 269–74.
152. Homöopathische Arzneibuch; HAB 2021 - Amtliche Ausgabe: Hamburg, Germany, 2021.
153. Hooper, S.N., Chandler, R.F., 1984 - Herbal remedies of the Maritime Indians: phytosterols and triterpenes of 67 plants, *Journal of Ethnopharmacology*. 10(2): 181-194.
154. Hoppe, H.A., 1975 - *Drogen Kunde, Band 1 Angiospermen*, 8. Auflage, Walter de Gruyter, Berlin, New York, pp. 531-532.
155. Hultin, E., Torssell, K., 1965 - Alkaloid-screening of swedish plants. *Phytochemistry*, 4, 425–433.
156. Hussain, T., Bie, T., Yulong, Y., Francois, B., Myrlene, C. B. T., Najma, R., 2016 - Oxidative Stress and inflammation: What polyphenols can do for us? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1–9.
157. Hwang, J. H., Kumar, V. R., Kang, S. Y., Jung, H. W., Park, Y. K., 2018 - Effects of Flower Buds Extract of *Tussilago farfara* on Focal Cerebral Ischemia in Rats and Inflammatory Response in BV2 Microglia. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 24(11): 844–852.
158. Hwang, S. B., Chang, M. N., Garcia, M. L., Han, Q. Q., Huang, L., King, V. F., Kaczorowski, G. J., Winquist, R. J., 1987 - L-652,469--a Dual Receptor Antagonist of Platelet Activating Factor and Dihydropyridines from *Tussilago farfara* L. *European Journal of Pharmacology*, 141(2): 269–281.
159. Hwangbo, C., Lee, H. S., Park, J., Choe, J., Lee, J. H., 2009 - The anti-inflammatory effect of tussilagone, from *Tussilago farfara*, is mediated by the induction of heme oxygenase-1 in murine macrophages. *International immunopharmacology*, 9(13-14), 1578–1584.
160. Igwenyi, I. O., Elekwa, A. E., 2014 - Phytochemical Analysis and Determination of Vitamin Contents of *Geranium robertianum*. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, 13(6)III: 44-47.
161. Ilić, M., Samardžić, S., Kotur-Stevuljević, J., Ušjak, D., Milenković, M., Kovačević, N., Drobac, M. 2021 - Polyphenol rich extracts of *Geranium* L. species as potential natural antioxidant and antimicrobial agents. *European review for medical and pharmacological sciences*, 25(20): 6283–6294.
162. Ilie, T., 2016 – Iarba Sfântului Robert – Năpraznicul. *Medicina Naturii*, Formula AS, Nr. 1234, <http://www.formula-as.ro/2016/1234/medicina-naturii-44/iarba-sfantului-robert-napraznicul-21266-print>
163. Jack, A. M., Keegan A., Cotter M. A., Cameron N. E., 2002 - Effects of Diabetes and Evening Primrose Oil Treatment on Responses of Aorta, Corpus Cavernosum and Mesenteric Vasculature in Rats. *Life Sciences*, 71(16): 1863–77.
164. Jafari, S., Salaritabar A., Moradi A., Khanavi M., Samadi M., 2010 - Antioxidant activity and total phenolic content of extracts and fractions of cultivated *Leonurus cardiaca* L. *Planta Medica*, 76, 376.
165. Jang, H., Ko, H., Song, K., Kim, Y. S., 2019 - A Sesquiterpenoid from *Farfarae Flos* Induces Apoptosis of MDA-MB-231 Human Breast Cancer Cells through Inhibition of JAK-STAT3 Signaling. *Biomolecules*, 9(7): 278.
166. Jarić, S., Kostić, O., Mataruga, Z., Pavlović, D., Pavlović, M., Mitrović, M., Pavlović, P., 2018 - Traditional wound-healing plants used in the Balkan region (Southeast Europe), *Journal of Ethnopharmacology*, 211, 311-328.

167. Ji, S., Fattahi, A., Raffel, N., Hoffmann, I., Beckmann, M.W., Dittrich, R., Schrauder, M., 2017 - Antioxidant effect of aqueous extract of four plants with therapeutic potential on gynecological diseases; *Semen persicae*, *Leonurus cardiaca*, *Hedyotis diffusa*, and *Curcuma zedoaria*. European Journal of Medical Research, 22(1): 1-8.
168. Jin, C., Ye, K., Luan, H., Liu, L., Zhang, R., Yang, S., Wang, Y., 2020 - *Tussilago* Inhibits Allergic Responses in OVA-Induced Allergic Rhinitis Guinea Pigs and IgE-Stimulated RBL-2H3 Cells. Fitoterapia, 144, 104496.
169. Johnson, M. T. J., 2011 - The contribution of evening primrose (*Oenothera biennis*) to a modern synthesis of evolutionary ecology. Population Ecology, 53(1): 9-21.
170. Julu, P.O.O., 1996 - Latency of Neuroactivity and Optimum Period of Treatment with Evening Primrose Oil in Diabetic Rats. Journal of Lipid Mediators and Cell Signalling, 13(2): 99–113.
171. Kahouaji, M. S., 1995 - Contribution à une étude ethnobotanique des plantes médicinales au Maroc Oriental. 3ème Diplôme d'études supérieures de Ier. Cycle. Université Mohamed, Faculté des Sciences d'Oujda, Maroc.
172. Kalle, R.; Sõukand, R., 2012 - Historical ethnobotanical review of wild edible plants of Estonia (1770s–1960s). Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 81(4): 271-281.
173. Kalra, Y.P., 1996 - Soil pH: First soil analysis methods validated by the AOAC International Journal of Forestry Research, 1, 61–64.
174. Kaminski, R., Speck, T., Speck, O., 2019 - Biomimetic 3D printed lightweight constructions: a comparison of profiles with various geometries for efficient material usage inspired by square-shaped plant stems. Bioinspiration & biomimetics, 14(4), 046007.
175. Kang, U., Park, J., Han, A. R., Woo, M. H., Lee, J. H., Lee, S. K., Chang, T. S., Woo, H. A., Seo, E. K., 2016 - Identification of Cytoprotective Constituents of the Flower Buds of *Tussilago farfara* against Glucose Oxidase-Induced Oxidative Stress in Mouse Fibroblast NIH3T3 Cells and Human Keratinocyte HaCaT Cells. Archives of Pharmacal Research, 39(4): 474–480.
176. Karasu, M. D., Stevens, E. J., Tomlinson, D. R., 1995 - Effects of Anti-Oxidant Treatment on Sciatic Nerve Dysfunction in Streptozotocin-Diabetic Rats; Comparison with Essential Fatty Acids. Diabetologia, 38(2): 129–34.
177. Kartnig, T., Bucar-Stachel, J., 1991 - Flavonoide aus den oberirdischen Teilen von *Geranium robertianum*. Planta Medica, 57, 292–293.
178. Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., Jukic, M., 2006 - Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. Food Chemistry, 94, 550-557.
179. Kathe, W., Chapter 14 Conservation of Eastern-European medicinal plants. In: Bogers, R.J., Craker L.E., Lange D. (ed.), Medicinal and Aromatic Plants, Springer, Netherlands, 203-211.
180. Khan, A., Khan, A., Khalid, S., Shal, B., Kang, E., Lee, H., Laumet, G., Seo, E. K., Khan, S., 2021 - 7β-(3-Ethyl-Cis-Crotonoyloxy)-1α-(2-Methylbutyryloxy)-3,14-Dehydro-Z Notonipetranone Attenuates Neuropathic Pain by Suppressing Oxidative Stress, Inflammatory and Pro-Apoptotic Protein Expressions. Molecules, 26(1): 181.
181. Khorshidi, M., Zarezadeh, M., Moghaddam, O. M., Emami, M. R., Kord-Varkaneh, H., Mousavi, S. M., Alizadeh, S., Heshmati, J., Olang, B., Aryaeian, N., 2020 - Effect of Evening Primrose Oil Supplementation on Lipid Profile: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Clinical Trials. Phytotherapy Research, 34(10): 2628–38.
182. Kikuchi, H., Toyoda, N., Ezawa, S., Yoshida, S., Hibino, Y., Sunaga, K., 2020 - Effects of Hot-water Extracts from 26 Herbs on A-glucosidase Activity. Molecular Medicine Reports, 22(4): 3525–3532.
183. Kim, H., Park, S.Y., Chung, D.K., 2021a - Effect of the Oral Administration of Common Evening Primrose Sprout (*Oenothera biennis* L.) Extract on Skin Function Improvement in UVB-irradiated Hairless Mice. Pharmaceuticals, 14, 222.
184. Kim, M. R., Lee, J. Y., Lee, H. H., Aryal, D. K., Kim, Y. G., Kim, S. K., Woo, E. R., Kang, K. W., 2006 - Antioxidative Effects of Quercetin-Glycosides Isolated from the Flower Buds of *Tussilago farfara* L. Food and Chemical Toxicology 44 (8): 1299–1307.

185. Kim, T.H., Shin, H.Y., Park, S.Y., Kim, H., Chung, D.K., 2021b - Development and Validation of a Method for Determining the Quercetin-3-O-glucuronide and Ellagic Acid Content of Common Evening Primrose (*Oenothera biennis*) by HPLC-UV. *Molecules*, 26, 267.
186. Kim, T.-S., Shin, K., Jeon, J. H., Choi, E.-K., Choi, Y., Lee, S.-P., Lee, Y.-B., Kim, Y.-B., 2015 - Comparative analysis of anti- *Helicobacter pylori* activities of FEMY-R7 composed of *Laminaria japonica* and *Oenothera biennis* extracts in mice and humans. *Laboratory Animal Research*, 31(1): 7.
187. Kim, Y. K., Yeo, M. G., Oh, B. K., Kim, H. Y., Yang, H. J., Cho, S. S., Gil, M., Lee, K. J., 2017 - *Tussilago* Inhibits the Inflammatory Response and Improves Survival in CLP-Induced Septic Mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(12): 2744.
188. Kobakhidze, K.B., Alaniya, M.D., 2004 - Flavonoids from *Geranium robertianum*. *Chem. Nat. Compd.* 40, 89–90.
189. Kokoska, L., Polesny, Z., Rada, V., Nepovim, A., Vanek, T., 2002 - Screening of Some Siberian Medicinal Plants for Antimicrobial Activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 82(1): 51–53.
190. Koshovyi, O., Raal, A., Kireyev, I., Tryshchuk, N., Ilina, T., Romanenko, Y., Kovalenko, S.M., Bunyatyan, N., 2021 - Phytochemical and Psychotropic Research of Motherwort (*Leonurus cardiaca* L.) Modified Dry Extracts. *Plants*, 10, 230.
191. Krzaczek, T., Bogucka-Kocka, A., 1994 - P21 chromatographical analysis of phenolic acids in some species genus *Oenothera* L. *The European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2, 117–194.
192. Krzaczek, T., Bogucka-Kocka, A., Śnieżko, R., 1995 - The phenolic acids of some species of the *Oenothera* L. genus. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 64, 41–44.
193. Kuhn, M. A., Winston, D., 2008 - Evening Primrose (*Oenothera biennis*). In: Winston & Kuhn's Herbal Therapy & Supplements A Scientific & Traditional Approach 2nd edition. Ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
194. Kupke, J., Schwierz, A., Niefind, B., 2000 - Arzneiund Gewürzpflanzen in Osteuropa. Anbau, Verarbeitung und Handel in 18 ausgewählten MOELändern - Materialien zur Marktentwicklung, Zentrale Markt- und Preisberichtsstelle GmbH (ZMP), Bonn, 34, pp. 95.
195. Kuroda, M., Ohshima, T., Kan, C., Mimaki, Y., 2016 - Chemical Constituents of the Leaves of *Tussilago farfara* and Their Aldose Reductase Inhibitory Activity. *Natural Product Communications*, 11(11): 1661–1664.
196. Kuruvilla, R, Peterson, R.G., Kincaid, J.C., Eichberg, J., 1998 - Evening Primrose Oil Treatment Corrects Reduced Conduction Velocity but Not Depletion of Arachidonic Acid in Nerve from Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 59(3): 195–202.
197. Kwak, C. S., Kim M.-J., Park S., Kim I. G., 2021 - Antioxidant Activity of Sprouts Extracts Is Correlated with Their Anti-Obesity and Anti-Inflammatory Effects in High-Fat Diet-Fed Mice. Edited by Rômulo Dias Novaes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021(February): 1–13.
198. Kyung, M., Tae, Y., Unwoo, k., Eun, K., Ji, H., Chu, W., Yeong, S. 2017 - *Tussilagonone* induced Nrf2 pathway activation protects HepG2 cells from oxidative injury. *Food and Chemical Toxicology*, 108(part A), 120-127.
199. Lacoste, S., 2015 - Les plantes qui guérissent: Les secrets de la phytothérapie, Éditions Leducs, 2015, pp. 220-222.
200. Lakshman, S., Jyothi, A., Mounica, V., Shasidhar, M., Rahamthulla, D., Kumar, R., 2014 - Preliminary Phytochemical and Toxicity Studies of *Oenothera biennis*. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 2(2): 1114–18.
201. Lam, K.Y., Wang, Y., Lam, T., Ku, C., Yeung, W., Zhao, Z., 2022 - Correlation between quality and geographical origins of Leonuri Herba revealed by the qualitative fingerprint profiling and quantitative determination of chemical components. *Chinese Medicine*, 17(1).
202. Lanzara, P., 1997 - *Piante medicinali*, Ed. Orsa Maggiore, Torriana, p. 238.
203. Larkin, D., 2011 – Saint or sprite? The Medieval garden Enclosed. The Metropolitan Museum of Art. Disponibil la: <https://blog.metmuseum.org/cloistersgardens/2011/06/17/saint-or-sprite/>

204. Latif, R., Nawaz, T., 2025 -Medicinal plants and human health: a comprehensive review of bioactive compounds, therapeutic effects, and applications. *Phytochemistry Reviews*, <https://doi.org/10.1007/s11101-025-10194-7>
205. Leclerc, H., 1973 - Précis de Phytothérapie, cinquième édition, deuxième tirage, Masson Et Cie, Éditeurs, Paris VIe, p. 130.
206. Lee, E.-J., Kim, Y. S., Kim, J. H., Woo, K. W., Park, Y.-H., Ha, J.-H., Li, W., Kim, T. I., An, B. K., Cho, H. W., Han, J. H., Choi, J.-G., Chung, H.-S., 2024 - Uncovering the colorectal cancer immunotherapeutic potential: Evening primrose (*Oenothera biennis*) root extract and its active compound oenothien B targeting the PD-1/PD-L1 blockade. *Phytomedicine*, 125(October 2023), 155370.
207. Lee, J. H., Kim, M. J., Woo, K. J., Hong, J., Kim, S. H., Kim, T. J., 2022 - Evening Primrose Extracts Inhibit PDGF-BB-Induced Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation and Migration by Regulating Cell-Cycle-Related Proteins. *Current issues in molecular biology*, 44(5): 1928–1940.
208. Lee, J., Song, K., Hiebert, P., Werner, S., Kim, T. G., Kim, Y. S., 2020 - *Tussilagonone* Ameliorates Psoriatic Features in Keratinocytes and Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Lesions in Mice via NRF2 Activation. *The Journal of Investigative Dermatology*, 140(6): 1223-1232.e4.
209. Lee, J., Song, K., Huh, E., Oh, M. S., Kim, Y. S., 2018 - Neuroprotection against 6-OHDA Toxicity in PC12 Cells and Mice through the Nrf2 Pathway by a Sesquiterpenoid from *Tussilago farfara*. *Redox Biology*, 18: 6–15.
210. Lee, Y. J., Song, K., Cha, S. H., Cho, S., Kim, Y. S., Park, Y., 2019 - Sesquiterpenoids from *Tussilago farfara* Flower Bud Extract for the Eco-Friendly Synthesis of Silver and Gold Nanoparticles Possessing Antibacterial and Anticancer Activities. *Nanomaterials* (Basel, Switzerland), 9(6): 819.
211. Lee, Y. J., Song, K., Cha, S.-H., Cho, S., Kim, Y. S., Park, Y., 2019 - Sesquiterpenoids from *Tussilago farfara* Flower Bud Extract for the Eco-Friendly Synthesis of Silver and Gold Nanoparticles Possessing Antibacterial and Anticancer Activities. *Nanomaterials* (Basel, Switzerland), 9(6): 819.
212. Legea nr. 491/2003 [Legea Plantelor Medicinale și Aromatice nr. 491/2003]. <https://lege5.ro/Gratuit/gq3denbx/legea-nr-491-2003-privind-plantele-medicinale-si-aromatice-precum-si-produsele-stupului> [Accesat la data 10.08.2020].
213. Li, J., Zhang, Z. Z., Lei, Z. H., Qin, X. M., Li, Z. Y., 2018 - NMR Based Metabolomic Comparison of the Antitussive and Expectorant Effect of *Farfarae Flos* Collected at Different Stages. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 150, 377–385.
214. Li, W., Huang, X., Yang, X. W., 2012 - New sesquiterpenoids from the dried flower buds of *Tussilago farfara* and their inhibition on NO production in LPS-induced RAW264.7 cells. *Fitoterapia*, 83(2), 318–322.
215. Li, Y., Wang, Y., 1988 - Evaluation of *tussilagone*: A cardiovascular-respiratory stimulant isolated from Chinese herbal medicine. *General Pharmacology: The Vascular System*, 19(2), 261–263.
216. Li, Z. Y., Zhi, H. J., Xue, S. Y., Sun, H. F., Zhang, F. S., Jia, J. P., Xing, J., Zhang, L. Z., Qin, X. M., 2012a - Metabolomic Profiling of the Flower Bud and Rachis of *Tussilago farfara* with Antitussive and Expectorant Effects on Mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 140(1): 83–90.
217. Liebig, M., Varvel, G., Honeycutt, W., 2010 - Sampling Protocols. Chapter 1. Guidelines for Site Description and Soil Sampling, Processing, Analysis, and Archiving. În: Follett, R.F., (Ed.), GRACEnet Sampling Protocols, p. 1-1 - 1-5. Disponibil la: www.ars.usda.gov/research/GRACEnet
218. Lim, H. J., Dong, G. Z., Lee, H. J., Ryu, J. H., 2015 - *In Vitro* Neuroprotective Activity of Sesquiterpenoids from the Flower Buds of *Tussilago farfara*. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 30(5): 852–856.
219. Lim, H. J., Lee, H. S., Ryu, J. H., 2008 - Suppression of Inducible Nitric Oxide Synthase and Cyclooxygenase-2 Expression by *Tussilagone* from *Farfarae Flos* in BV-2 Microglial Cells. *Archives of Pharmacal Research*, 31(5): 645–652.

220. Lima, I. S., 2009 - Estudos de metabolismo *in vitro* de extractos aquosos de são roberto, *Geranium robertianum*. Aplicações terapêuticas na doença de alzheimer. Mestrado em bioquímica. Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, Departamento de Química e Bioquímica.
221. Lin, H., Chen, M., Gao, Y., Wang, Z., Jin, F., 2022 - *Tussilagone* Protects Acute Lung Injury from PM2.5 via Alleviating Hif-1 α /NF-KB-Mediated Inflammatory Response. *Environmental Toxicology*, 37(5): 1198–1210.
222. Linné, C. V., Engel-Ledeboer, M. S. J., Engel, H., (Eds.) 1964 - Carolus Linnaeus *Systema naturae*, 1735: Facsimile of the 1st ed. B. de Graaf.
223. Liu, C., Wu, H., Wang, L., Luo, H., Lu, Y., Zhang, Q., Tang, L., Wang, Z., 2020 - *Farfarae Flos*: A review of botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology. *Journal of ethnopharmacology*, 260, 113038.
224. Liu, C., Yin, H., Gao, J., Xu, X., Zhang, T., Yang, Z., 2016 - Leonurine ameliorates cognitive dysfunction via antagonizing excitotoxic glutamate insults and inhibiting autophagy. *Phytomedicine*, 23(13): 1638–1646.
225. Liu, W., Cui, X., Zhong, Y., Ma, R., Liu, B., Xia, Y. 2023 Phenolic metabolites as therapeutic in inflammation and neoplasms: Molecular pathways explaining their efficacy. *Pharmacological research*, 193, 106812.
226. Liu, W., Yin, D., Li, N., Hou, X., Wang, D., Li, D., Liu, J., 2016 - Influence of Environmental Factors on the Active Substance Production and Antioxidant Activity in *Potentilla fruticosa* L. and Its Quality Assessment. *Scientific reports*, 6, 28591.
227. Liu, W., Yin, D., Li, N., Hou, X., Wang, D., Li, D., Liu, J., 2016 - Influence of environmental factors on the active substance production and antioxidant activity in *Potentilla fruticosa* L. and its quality assessment. *Scientific Reports*, 6, 28591.
228. Lockett, M.J., Tomlinson, D.R., 1992 - The Effects of Dietary Treatment with Essential Fatty Acids on Sciatic Nerve Conduction and Activity of the Na + /K + Pump in Streptozotocin-diabetic Rats. *British Journal of Pharmacology*, 105(2): 355–60.
229. Loranty, A., Rembialkowska, E., Rosa, E.A.S., Bennett, R.N., 2010 - Identification, quantification and availability of carotenoids and chlorophylls in fruit, herb and medicinal teas. *Journal of Food Composition and Analysis*. 23, 432–441.
230. Łuczaj, Ł., 2012 - Ethnobotanical review of wild edible plants of Slovakia, *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 81(4): 245-255.
231. Łuczaj, Ł., Szymański, W. M., 2007 - Wild vascular plants gathered for consumption in the Polish countryside: a review. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 3, 17.
232. Ma, R., Chen, Q., Li, H., Wu, S., Lian, M., Jin, X., Jiang, J., 2020 - Extract of *Oenothera biennis* L. stem inhibits LPS-induced inflammation by regulating MAPK and NF- κ B signaling pathways. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 33(4): 1473–1481.
233. Machon, N., Motard, E., 2018 - À la découverte des plantes sauvages utiles. Comment les identifier, comment les utiliser, Dunod, p. 133.
234. Matkowski, A., Piotrowska, M., 2006 - Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia*, 77(5): 346–353.
235. Matsumoto-Nakano, M., Nagayama, K., Kitagori, H., Fujita, K., Inagaki, S., Takashima, Y., Tamesada, M., Kawabata, S., Ooshima, T., 2011 - Inhibitory Effects of *Oenothera biennis* (Evening Primrose) Seed Extract on *Streptococcus mutans* and *S. mutans*-Induced Dental Caries in Rats. *Caries Research*, 45(1): 56–63.
236. Medsger, O. P. 1939 – Edible wild plants. New York The Macmillan Co.
237. Mert, H., İrak K., Çibuk S., Yıldırım S., Mert N., 2022 - The Effect of Evening Primrose Oil (*Oenothera biennis*) on the Level of Adiponectin and Some Biochemical Parameters in Rats with Fructose Induced Metabolic Syndrome. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 128(6): 1539–47.
238. Meteomanz Database. Disponibil la: <http://www.meteomanz.com/> [Accesat la data 7.04.2022].

239. Micota, B., Sadowska, B., Podśędek, A., Paszkiewicz, M., Sosnowska, D., Różalska, B., 2016 - Is it true that plant-derived polyphenols are always beneficial for the human? *In vitro* study on *Leonurus cardiaca* extract properties in the context of the pathogenesis of *Staphylococcus aureus* infections. *Journal of medical microbiology*, 65(10), 1171–1181.
240. Miller, J.H., Miller, K.V., 1999 - *Forest Plants of the Southeast and Their Wildlife Uses*. Champaign, IL: Southern Weed Science Society of America. p. 134.
241. Miyazawa, M., Ikeda, H., Kameoka, H., 1978 - The Constituents of the Essential Oil from *Oenothera biennis* L. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 52(10): 449–55.
242. Montserrat-de la Paz, S., García-Giménez, M.D., Ángel-Martín, M., Pérez-Camino, M.C., Fernández Arche, A., 2014a - Long-chain fatty alcohols from evening primrose oil inhibit the inflammatory response in murine peritoneal macrophages. *The Journal of Ethnopharmacology*, 151, 131–136.
243. Morse, P.F., Horrobin, D.F., Manku, M.S., Stewart, J.C.M., Allen, R., Littlewood, S., Wright, S., 1989 - Meta-Analysis of Placebo-Controlled Studies of the Efficacy of Epogam in the Treatment of Atopic Eczema. Relationship between Plasma Essential Fatty Acid Changes and Clinical Response. *British Journal of Dermatology*, 121(1): 75–90.
244. Morton, J. F., 1963 – Principal wild food plants of the United States excluding Alaska and Hawaii. *Economic Botany*, 17, 319-330.
245. Mosaad, S. M., Zaitone S. A., Ahmed A. A. M., Abo-Elmatty D. M., El-Baz A. A., Moustafa Y. M., 2017 - Evening Primrose Oil or Forskolin Ameliorates Celecoxib-Enhanced Upregulation of Tissue Factor Expression in Mice Subjected to Lipopolysaccharide-Induced Endotoxemia. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 390(5): 483–92.
246. Munir, R., Semmar, N., Farman, M., Ahmad, N. S., 2017 - An Updated Review on Pharmacological Activities and Phytochemical Constituents of Evening Primrose (Genus *Oenothera*). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(11): 1046–54.
247. Muñoz, S. E., Piegari, M., Guzmán, C. A., Eynard, A. R., 1999 - Differential Effects of Dietary *Oenothera*, *Zizyphus mistol*, and Corn Oils, and Essential Fatty Acid Deficiency on the Progression of a Murine Mammary Gland Adenocarcinoma. *Nutrition*, 15(3): 208–12.
248. Murariu, D., 2002 - Status of the Romanian medicinal and aromatic plants collection - Suceava Genebank. Unpublished report. pp. 17.
249. Muravnik, E., Kostina, O.V., 2014 - LS-8-P-1836 Structure and functions of the glandular trichomes of the vegetative and reproductive organs in some Asteraceae species. In *Proceedings of the 18th International Microscopy Congress Proceedings, Czechoslovak Microscopy Society, Prague, Czech Republic, 7–12 September 2014*, <http://www.microscopy.cz/html/1836.html> [Accesat la data 16.11.2021].
250. Muravnik, L. E., Kostina, O. V., Shavarda, A. L., 2016 - Glandular trichomes of *Tussilago farfara* (Senecionae, Asteraceae). *Planta*, 244, 737-752.
251. Muravyova D.A., Samylina I.A., Yakovlev G.P., 2002 - *Pharmacognosy*. 4th ed., rev. and complement. (Russian), Medicine, Moscow.
252. Myerscough, P. J., Whitehead, F. H., 1966 - comparative biology of *Tussilago farfara* L., *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop., *Epilobium montanum* L. and *Epilobium adnocaulon* Hausskn. *New Phytologist*, 65(2): 192-210.
253. Neagu E., Păun, G., Constantin, D., Radu, G. L., 2017 – Cytostatic activity of *Geranium robertianum* L. extracts processed by membrane procedures *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S2547-S2553.
254. Neagu, E., Păun, G., Morocanu, V., Radu, G. L., 2010b – Evaluation of the antioxidant capacity of *Geranium robertianum* extracts, *Revue Roumaine de Chimie*, 55(6): 321-325.

255. Neagu, E., Paun, G., Ungureanu, O., Radu, G., 2019 - Antioxidant activity and phenolics content of *capsella bursa-pastoris* and *marrubium vulgare* depending on environmental factors. *Environmental Engineering and Management Journal*, 18(7): 1553-1560.
256. Nedelcheva, A., Kostova, N., Sidjimov, A., 2015 - Pyrrolizidine alkaloids in *Tussilago farfara* from Bulgaria. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29(sup1): S1–S7.
257. Nikolova M., Tsvetkova R., Ivancheva S., 2010 - Evaluation of antioxidant activity in some Geraniacean species. *Botanica Serbica*, 34, 123–125.
258. Noge, K., Tamogami S., 2018 - Isovaleronitrile Co-Induced with Its Precursor, l-Leucine, by Herbivory in the Common Evening Primrose Stimulates Foraging Behavior of the Predatory Blue Shield Bug. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 82(3): 395–406.
259. Noher de Halac, I., Harte, C., 1995 - Genetics and development of morphological and physiological characters of male sterility in *Oenothera*. *Protoplasma*, 187: 22-30.
260. Oalde, M., Kolarević, S., Živković, J., Alimpić Aradski, A., Jovanović Marić, J., Kračun Kolarević, M., Đorđević, J., Marin, P.D., Šavikin, K., Vuković-Gačić, B., Duletić-Laušević, S., 2021 - A comprehensive assessment of the chemical composition, antioxidant, genoprotective and antigenotoxic activities of Lamiaceae species using different experimental models *in vitro*. *Food & Function*, 12(7): 3233–3245.
261. Ody, P., 1993 – The complete medicinal herbal, Dorling Kindersley Ltd, London, p. 152-181.
262. Omran, O. M., 2012 - Histopathological Study of Evening Primrose Oil Effects on Experimental Diabetic Neuropathy. *Ultrastructural Pathology*, 36(4): 222–27.
263. Oon, B.B., Muggleston D., Warley A., 1992 - A Diet Enriched in Essential Fatty Acids Protects against the Loss of Lymphocytes Which Occurs in Rats Suffering from Streptozotocin-induced Diabetes. *Experimental Physiology*, 77(1): 185–90.
264. OUG 57/2007 [Ordonanța de Urgență 57/2007 Privind Regimul Ariilor Naturale Protejate, Conservarea Habitatelor Naturale, a Florei și Faunei Sălbatiche]. *Monitorul Oficial al României*. 2007, <https://legislatie.just.ro/Public/DetaliiDocument/83289> [Accesat la data 10.08.2020].
265. Păcurar F., 2020 – Specii indicator pentru evaluarea și elaborarea managementului sistemelor de pajiști cu înaltă valoare naturală – HNV, Casa Cărții de Știință, Cluj-Napoca.
266. Panahi, Y., Akhavan, A., Sahebkar, A., Hosseini, S. M., Taghizadeh, M., Akbari, H., Sharif, M. R., Imani, S., 2014 - Investigation of the effectiveness of *Syzygium aromaticum*, *Lavandula angustifolia* and *Geranium robertianum* essential oils in the treatment of acute external otitis: a comparative trial with ciprofloxacin. *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi*, 47(3): 211–216.
267. Papović, O., Pljevljakušić, D., Marković, M., 2021 - Ethnopharmacological application the plants from family Geraniaceae in the Pirot County. *Пиротски зборник*, 46, 43-51.
268. Park, H. R., Yoo, M. Y., Seo, J. H., Kim, I. S., Kim, N. Y., Kang, J. Y., Cui, L., Lee, C. S., Lee, C. H., Lee, H. S., 2008 - Sesquiterpenoids isolated from the flower buds of *Tussilago farfara* L. inhibit Diacylglycerol Acyltransferase. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(22): 10493-10497.
269. Păun, G., Litescu, S. C., Neagu, E., Tache, A., Lucian Radu, G., 2014 - Evaluation of *Geranium* spp., *Helleborus* spp. and *Hyssopus* spp. polyphenolic extracts inhibitory activity against urease and α -chymotrypsin. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 29(1): 28–34.
270. Păun, G., Neagu, E., Litescu, S. C., Rotinberg, P., Radu, G. L., 2012 - Application of membrane processes for the concentration of *Symphytum officinale* and *Geranium robertianum* extracts to obtain compounds with high anti-oxidative activity *Journal of the Serbian Chemical Society*, 77(9): 1191-1203.
271. Păun, G., Neagu, E., Tache, A., Radu, G.L., Parvulescuc, V., 2011 - Application of the nanofiltration process for concentration of polyphenolic compounds from *Geranium robertianum* and *Salvia officinalis* extracts. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 25, 453–460.

272. Pedro, L. G., Pais, M. S. S., Scheffer, J. J. C., 1992 - Composition of the essential oil of *Geranium robertianum* L., Flavour and Fragrance Journal, 7(4): 223-226.
273. Pedro, L. G., Pais, M. S. S., Scheffer, J. J. C., 1992 - Composition of the essential oil of *Geranium robertianum* L., Flavour and Fragrance Journal, 7(4): 223-226.
274. Pedro, L., Campos, P., Pais, M. S., 1990a – Morphology, ontogeny and histochemistry of secretory trichomes of *Geranium robertianum* (Geraniaceae), Nordic Journal of Botany, 10(5): 501-509.
275. Pedro, L., Campos, P., Pais, M.S., 1991 – Ultrastructure of the apical cell of procumbent (Type-I) trichomes in *Geranium robertianum* L. (Geraniaceae), Israel Journal of Botany, 40(3): 209-217.
276. Pedro, L., Sousa, M.J., Novais, J.M., pais, M. S., 1990b – Callus and suspension cultures from *Geranium robertianum* L. (Geraniaceae), Biotechnology Letters, 12, 439-442.
277. Pellegrina, C. D., Padovani, G., Mainente, F., Zoccatelli, G., Bissoli, G., Mosconi, S., Veneri, G., Peruffo, A., Andrighetto, G., Rizzi, C., Chignola, R., 2005 - Anti-tumour potential of a gallic acidcontaining phenolic fraction from *Oenothera biennis*, Cancer Letters, 206: 17-25.
278. Pereira, O.R., Macias, R.I.R., Domingues, M.R.M., Marin, J.J.G., Cardoso, S.M., 2019 - Hepatoprotection of *Mentha aquatica* L., *Lavandula dentata* L. and *Leonurus cardiaca* L. Antioxidants, 8, 267.
279. Peschel, W., Dieckmann, W., Sonnenschein, M., Plescher, A., 2007 - High antioxidant potential of pressing residues from evening primrose in comparison to other oilseed cakes and plant antioxidants. Industrial Crops and Products, 25(2): 173–179.
280. Petkova V., Hadzhieva B., Nedialkov P., 2019 - Phytotherapeutic approaches to treatment and prophylaxis in pediatric practice. Pharmacia, 66(2): 115-119.
281. Pezzani, R., Salehi, B., Vitalini, S., Iriti, M., Zuñiga, F. A., Sharifi-Rad, J., Martorell, M., Martins, N., 2019 - Synergistic Effects of Plant Derivatives and Conventional Chemotherapeutic Agents: An Update on the Cancer Perspective. Medicina (Kaunas, Lithuania), 55(4), 110.
282. Philip, G.M., Watson, D.F., 1982 - A Precise Method for Determining Contoured Surfaces. APEA J., 22, 205–212.
283. Pirmă, I., Voicu E., Radu M., Ciupercă R., Muscalu A., 2012 - Ghid. Tehnologii de recoltare a plantelor medicinale și aromatice din zona Călărași - Silistra. Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Științe Biologice.
284. Pitschmann, A., Waschulin, C., Sykora, C., Purevsuren, S., Glasl, S., 2017 - Microscopic and phytochemical comparison of the three *Leonurus* species *L. cardiaca*, *L. japonicus*, and *L. sibiricus*. Planta Medica, 83, 1233e1241.
285. Piwowski, J. P., Granica, S., Zwierzyńska, M., Stefańska, J., Schopohl, P., Melzig, M. F., Kiss, A. K., 2014 - Role of human gut microbiota metabolism in the anti-inflammatory effect of traditionally used ellagitannin-rich plant materials. Journal of ethnopharmacology, 155(1), 801–809.
286. Piwowski, J.P., Kiss, A.K., Kozłowska-Wojciechowska, M., 2011 - Anti-hyaluronidase and anti-elastase activity screening of tannin-rich plant materials used in traditional Polish medicine for external treatment of diseases with inflammatory background. Journal of Ethnopharmacology, 137, 937–941.
287. Popov, A.I., Shpan'ko, D.N., Chernov, V.A., Cherkasova, E.A. Shajdulina, T.B., 2009 - Morphological and anatomical study of ornamental plants with medicinal properties. Tekhnika i tekhnologiya pishchevyh proizvodstv, 4(15): 74–78.
288. Preston, C.D., Hill, M.O., 1997 - The geographical relationships of British and Irish vascular plants. Botanical Journal of the Linnean Society, 124, 1–120.
289. QGIS Development Team. QGIS Geographic Information System. Version 3.40 “Bratislava”; Open Source Geospatial Foundation Project: 2024. Disponibil la: <https://qgis.org> [Accessed la data 25.09.2025].
290. Qin, Z. B., Zhang, J., Wu, X. D., He, J., Ding, L. F., Peng, L. Y., Li, X. Y., Li, Y., Deng, L., Guo, Y. D., Zhao, Q. S., 2014 - Sesquiterpenoids from *Tussilago farfara* and Their Inhibitory Effects on Nitric Oxide Production. Planta Medica, 80(8–9): 703–709.

291. Qu, H., Yang, W., Li, J., 2018 - Structural Characterization of a Polysaccharide from the Flower Buds of *Tussilago farfara*, and Its Effect on Proliferation and Apoptosis of A549 Human Non-Small Lung Cancer Cell Line. *International Journal of Biological Macromolecules*, 113, 849–858.
292. Radulović, N., Dekić, M. Stojanović-Radić, Z., 2011 - Chemical composition and antimicrobial activity of the volatile oils of *Geranium sanguineum* L. and *G. robertianum* L. (Geraniaceae). *Medicinal Chemistry Research*, 21, 601–615.
293. Rates, S. M. K., 2001 - Plants as Source of Drugs. *Toxicon*, 39(5): 603–613.
294. Ratz-Lyko, A., Arct, J., Herman, A., Pytkowska, K., 2015 - The effect of enzymatic hydrolysis on the biological properties of *Oenothera biennis*, *Borago officinalis* and *Nigella sativa* seedcake by products from oil pressing. *International Journal of Food Science & Technology*, 49, 1689–1698.
295. Ratz-Lyko, A., Arct, J., Pytkowska, K., Majewski, A., 2013 - *In vivo* and *ex vivo* evaluation of cosmetic properties of seedcakes, *Journal of cosmetic and Laser therapy*, 17(2): 109-115.
296. Rauwald H.W., Savtschenko A., Merten A., Rusch C., Appel K., Kuchta K., 2015 - GABAA receptor binding assays of standardized *Leonurus cardiaca* and *Leonurus japonicus* extracts as well as their isolated constituents. *PlantaMedica*, 81(12-13): 1103–1110.
297. Ravipati, A. S., Zhang, L., Koyyalamudi, S. R., Jeong, S. C., Reddy, N., Bartlett, J., Smith, P. T., Shanmugam, K., Münch, G., Wu, M. J., Satyanarayanan, M., Vysetti, B., 2012 - Antioxidant and anti-inflammatory activities of selected Chinese medicinal plants and their relation with antioxidant content. *BMC complementary and alternative medicine*, 12, 173.
298. Reader's Digest, 1985 – *Secrets et vertus des plantes médicinales*, paris, Bruxelles, Montreal, Zürich, p. 153.
299. Re flora <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB7809> [Accesat la data 27.01.2023].
300. Renda, G., Celik, G., Korkmaz, B., Karaoglu, S. A., Yayli, N., 2016 - Antimicrobial Activity and Analyses of Six *Geranium* L. Species with Headspace SPME and Hydrodistillation. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(8): 2003–2016.
301. Renner, O., 1942 - Europäische Wildarten von *Oenothera*. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 60: 448–466. Reveal, J. 1995. Index Nominum Supragenericorum Plantarum Vascularium. <http://www.life.umd.edu/emeritus/reveal/pbio/WWW/supragen.html>.
302. Rezaee-Asl M., Sabour M., Nikoui V., Ostadhadi S., Bakhtiarian A., 2014 -The study of analgesic effects of *Leonurus cardiaca* L. in mice by formalin, tail flick and hot plate tests. *International Scholarly Research Notices*, vol. 2014, Article ID 687697, p. 5.
303. Rezapour-Firouzi, S., Arefhosseini, S. R., Ebrahimi-Mamaghani, M., Baradaran, B., Sadeghihokmabad, E., Torbati, M., Mostafaei, S., Chehreh, M., Zamani, F., 2014 - Activity of liver enzymes in multiple sclerosis patients with Hot-nature diet and co-supplemented hemp seed, evening primrose oils intervention. *Complementary Therapies in Medicine*, 22(6): 986–993.
304. Riaz, A., Khan R. A., Ahmed S. P., 2009 - Assessment of Anticoagulant Effect of Evening Primrose Oil. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22(4): 355–59.
305. Rigat, M., Vallès, J., D'Ambrosio, U., Gras, A., Iglésias, J., Garnatje, T., 2015 - Plants with topical uses in the Ripollès district (Pyrenees, Catalonia, Iberian Peninsula): Ethnobotanical survey and pharmacological valid Tobyn, G., Denham A., Whitelegg, M., 2011 - Chapter 30 - *Tussilago farfara*, coltsfoot. În: Tobyn, G., Denham A., Whitelegg M. (ed). *Medicinal herbs*, Ed. Churchill Livingstone, pp. 317-326.
306. Rodideal, T., Boz, I., Costică, N., 2021 - Histo-anatomical studies in *Tussilago farfara* L. a species with medicinal potential against respiratory diseases. *Analele Științifice ale Universității „Al. I. Cuza” Iași, s II a Biologie vegetală*, 67, pp. 17-22.
307. Roh, J. S., Dong, H. S., 2018 - Damage-associated molecular patterns in inflammatory diseases. *Immune Network*, 18(4)e27.

308. Romanian Pharmacopoeia, 1993 - RPh. X; Editura Medicală, București, Romania, pp. 1035–1041.
309. Rout S.P., Choudary K.A., Kar D.M., Das L., Jain A., 2009 - Plants in traditional medicinal system – Future source of new drugs. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, (1):1–23.
310. Rybak L., Nuzhyna N., Konovalova E., 2014 – Chemotaxonomic and anatomical differences between some species of the genus *Geranium* L. of flora of Ukraine, *The Pharma Innovation Journal*, 2 (12): 13-19.
311. Rybak, L., Rudik, G., 2013 - Research on quantitative content of lectins in plants of the *Geranium* L. genus. *Pharma Innovation* 2, 38–41.
312. Ryoo, G. H., Moon, Y. J., Choi, S., Bae, E. J., Ryu, J. H., Park, B. H., 2020 - *Tussilagone* Promotes Osteoclast Apoptosis and Prevents Estrogen Deficiency-Induced Osteoporosis in Mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 531(4): 508–514.
313. Ryu, J. H., Jeong, Y. S., Sohn, D. H., 1999 - A new bisabolene epoxide from *Tussilago farfara*, and inhibition of nitric oxide synthesis in LPS-activated macrophages. *Journal of natural products*, 62(10), 1437–1438.
314. Ryu, J.-H., Hua, L., Hwa, J. L., Woo-Young, K., 2014 - Abstract 3200: The Effect of a Sesquiterpenoid from *Tussilago farfara* on Cellular Proliferation via the Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway in Colon Cancer. *Cancer Research*, 74(19_Supplement): 3200–3200.
315. Sadi, A. M., Toda T., Oku H., Hokama S., 1996 - Dietary Effects of Corn Oil, Oleic Acid, Perilla Oil, and Primrose Oil on Plasma and Hepatic Lipid Level and Atherosclerosis in Japanese Quail. *Experimental Animals*, 45(1): 55–62.
316. Sadowska, B., Laskowski, D., Bernat, P., Micota, B., Więckowska-Szakiel, M., Podsędek, A., Różalska, B., 2019 - Molecular mechanisms of *Leonurus cardiaca* L. extract activity in prevention of staphylococcal endocarditis—study on *in vitro* and *ex vivo* models. *Molecules*, 24(18), 3318.
317. Sadowska, B., Micota, B., Różalski, M., Redzynia, M., Różalski, M., 2017 - The immunomodulatory potential of *Leonurus cardiaca* extract in relation to endothelial cells and platelets. *Innate immunity*, 23(3), 285–295.
318. Safonova, E. A., K. A. Lopatina, T. G. Razina, E. P. Zueva, E. P. Fedorova, A. M. Gur'ev, Belousov, M. V., 2018b - Modification of the Myelotoxic and Antitumor Effects of Polychemotherapy by Polysaccharides from *Tussilago farfara* L. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 166(2): 197-200.
319. Safonova, E. A., Lopatina, K. A., Dyagel, A. R., Razina, T. G., Krylova, S. G., Gur'ev, A. M., Belousov, M. V., Zueva, E. P., 2020b - Effect of *Tussilago farfara* L. Polysaccharides on the Content of Hematopoietic Stem Cells (CD117 + 34 +) in the Bone Marrow of Mice Treated with Cyclophosphamide. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 170(1): 171–74.
320. Safonova, E. A., Lopatina, K. A., Razina, T. G., Zueva, E. P., Gur'ev, A. M., Belousov, M. V., 2020a - Effects of *Tussilago farfara* L. Polysaccharides on the Expression of PD-1 (CD279) and PD-L1 (CD274) in Peripheral Blood and Tumor Tissue Lymphocytes in Mice with Lewis Lung Carcinoma. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 169(3): 378–82.
321. Safonova, E. A., Lopatina, K. A., Razina, T. G., Zueva, E. P., Sadrikina, L. A., Gur'ev, A. M., Belousov, M. V., 2019 - Correction of Damaging Effects of Cisplatin-Containing Polychemotherapy on the Intestinal Epithelium with *Tussilago farfara* L. Polysaccharides. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 167(5): 616–20.
322. Safonova, E. A., Lopatina, K. A., Vychuzhanina, A. V., Ermolaeva, L. A., Razina, T. G., Zueva, E. P., 2016 - Plant Polysaccharides Attenuate Fluorouracil Toxicity for the Small Intestinal Epithelium. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 161(2): 308–11.
323. Safonova, E. A., Lopatina, K. A., Vychuzhanina, A. V., Mashanova, V. A., Razina, T. G., Borovskaya, T. G., Zueva, E. P., Gur'ev, A. M., Belousov, M. V., 2018a - Protective Effect of Polysaccharides from *Tussilago farfara* L. on Bone Marrow Cells and Small Intestinal Epithelium Under Conditions of Polychemotherapy Evaluated by DNA Comet Assay. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 166(2): 217–221.

324. Salimpour F., Mazooji A., Onori S., 2009 – Stem and leaf anatomy of ten *Geranium* L. species in Iran, African Journal of Plant Science, 3 (11): 238-244.
325. Samoilova Z., Muzyka N., Lepekhina E., Oktyabrsky O., Smirnova G., 2014 - Medicinal plant extracts can variously modify biofilm formation in *Escherichia coli*. Antonie van Leeuwenhoek-Journal of Microbiology, 105(4): 709– 722.
326. Santos, S.F., Catarino, M.D., Marcos, M., Ferreira, F.M., Sobral, A.J.F.N., Cardoso, S.M., 2013 - Antioxidant properties of *Geranium robertianum* L. Conference: European Journal of Clinical Investigation, 43 (Suppl. 1), 3–96.
327. Sârbu, I., Ștefan, N., Oprea, A., 2013 – Plante vasculare din România: determinant ilustrat de teren, Ed. Victor B Victor, București, p. 764.
328. Sârbu, I., Ștefan, N., Oprea, A., Bortaș, V., 2013 - Câmpan, A. (ed.) Plante vasculare din România. Determinator Ilustrat de Teren, Ed. Victor B Victor, București.
329. Šardžiková, I., Schmidt, Š., Farkaš, P., Sekretar, S., Kovac, M., 2002 - Isolation and Antioxidant Activity of Phenolic Compounds of Evening Primrose (*Oenothera biennis* L.). Bulletin Potravinárskeho Výskumu (Bull. Food Res.) Roè., 41, 241–253.
330. Savchenko, O. M., Totskaya, S. A., Gryaznov, M. Yu., 2021 - Micromorphological features of the leaf epidermis of the evening primrose cultivars of the VILAR biocollection. Agronomy Research, 19(4): 1938-1948.
331. Săvulescu T., 1958 – Flora Republicii Populare Române, Vol. VI, Ed. Academiei Republicii Populare Române, București, 151.
332. Săvulescu, T., 1964 - Flora Republicii Populare Române, Vol. IX, Ed. Academiei Republicii Populare Române, București, p. 483.
333. Schelz, Z., Molnar, J., Hohmann, J., 2006 - Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. Fitoterapia, 77(4): 279–285.
334. Schmidt, T., Niklova, L., Pokorny, J., Farkas, P., Sekretar, S., 2003 - Antioxidant activity of evening primrose phenolics in sunflower and rapeseed oils. European Journal of Lipid Science and technology, 105(8): 427-435.
335. Schweingruber, F.H., Börner, A. Schulze, E.-D., 2011 – Atlas in Stem Anatomy in Herbs, Shrubs and Trees, Volume 1, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, :290-295
336. Segneanu, A.-E., Cepan, C., Grozescu, I., Cziple, F., Olariu, S., Ratiu, S., Lazar, V., Murariu, S.M., Velciov, S.M., Marti, T. D., 2019 - Therapeutic Use of Some Romanian Medicinal Plants. IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.82477.
337. Seidel V., 2020 - Plant-Derived Chemicals: A Source of Inspiration for New Drugs. Plants (Basel, Switzerland), 9(11), 1562.
338. Selek, S., Esrefoglu, M., Meral, I., Bulut, H., Caglar, H.G., Sonuc, G., Yildiz, C., *et al.* 2019 - Effects of *Oenothera biennis* L. and *Hypericum perforatum* L. Extracts on Some Central Nervous System Myelin Proteins, Brain Histopathology and Oxidative Stress in Mice with Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. Biotechnic & Histochemistry, 94(2): 75–83.
339. Șerbănescu-Jitariu, G., Andrei, M., Radulescu-Mitroiu, N., Petria, E., 1983 - Practicum de biologie vegetala, Ed. Ceres, București.
340. Sermukhamedova, O. V., Zuriyadda B. Sakipova, I. I. Ternynko, Nadezhda G. G., 2017 - Representatives of Motherwort Genus (*Leonurus* spp.): Aspects of pharmacognostic features and relevance of new species application. Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research, 74(1): 31–40.
341. Setzer W. N., 2018 - The Phytochemistry of Cherokee Aromatic Medicinal Plants. Medicines (Basel, Switzerland), 5(4): 121.
342. Sexton, R., Struthers, W.A. Lewis, L.N., 1983 - Some observations on the very rapid abscission of the petals of *Geranium robertianum* L. Protoplasma 116, 179–186.

343. Shahidi, F., Amarowicz, R., He, Y., Wettasinghe, M., 1997 - Antioxidant activity of phenolic extracts of evening primrose (*Oenothera biennis*): a preliminary study. *Journal of Food Lipids*, 4(2): 75-86.
344. Sharifi, M., Nourani, N., Sanaie, S., Hamedeyazdan, S., 2024 - The effect of *Oenothera biennis* (Evening primrose) oil on inflammatory diseases: a systematic review of clinical trials. *BMC complementary medicine and therapies*, 24(1): 89.
345. Shawarb, N., Jaradat N., Abu-Qauod H., Alkowni R., Hussein F., 2017 - Investigation of antibacterial & antioxidant activity for methanolic extract from different edible plant species in Palestine. *Moroccan Journal of Chemistry*, 5(4): 573-579.
346. Shawarb, N., Jaradat N., Abu-Qauod H., Alkowni R., Hussein F., 2017 - Investigation of antibacterial & antioxidant activity for methanolic extract from different edible plant species in Palestine. *Moroccan Journal of Chemistry*, 5(4): 573-579.
347. Shikov, A.N., Pozharitskaya, O.N., Makarov, V.G., Demchenko, D.V., Shikh, E.V., 2011 - Effect of *Leonurus cardiaca* oil extract in patients with arterial hypertension accompanied by anxiety and sleep disorders, *Phytotherapy Research*, 25(4), pp. 540–543.
348. Shikov, A.N., Pozharitskaya, O.N., Makarov, V.G., Wagner, H., Verpoorte, R., Heinrich, M., 2014 - Medicinal Plants of the Russian Pharmacopoeia; their history and applications, *Journal of Ethnopharmacology*, 154(3): 481-536.
349. Shukla, Y., Srivastava, A., Kumar, S., Kumar, S., 1999 - Phytotoxic and antimicrobial constituents of *Argyrea speciosa* and *Oenothera biennis*. *Journal of Ethnopharmacology*, 67(2): 241–245.
350. Singer, P., Berger, I., Wirth, M., Godicke, W., Jaeger, W., Voigt, S., 1986 - Slow desaturation and elongation of linoleic and α -linolenic acids as a rationale of cicosapentaenoic acid-rich diet to lower blood pressure and serum lipids in normal, hypertensive and hyperlipemic subjects. *Prostaglandins, leukotrienes, and Medicine*, 2, 173-193.
351. Singer, P., Moritz, V., Wirth, M., Berger, I., Forster, D., 1990 - Blood Pressure and Serum Lipids from SHR after Diets Supplemented with Evening Primrose, Sunflowerseed or Fish Oil. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 40(1): 17–20.
352. Singh, R., Trivedi, P., Bawankule, D. U., Ahmad, A., Shanker, K., 2012 - HILIC quantification of Oenotheralanosterol A and B from *Oenothera biennis* and their suppression of IL-6 and TNF- α expression in mouse macrophages. *Journal of Ethnopharmacology*, 141(1): 357–362.
353. Singh, S., Dubey, V., Singh, D. K., Fatima, K., Ahmad, A., Luqman, S., 2017 – Antiproliferative and antimicrobial efficacy of the compounds isolated from the roots of *Oenothera biennis* L. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 69(9): 1230–1243.
354. Sivapragasam, G., Palanivel, G., Shin-Young, P., Sharida, F., Dong-Kug, C., Palanisamy, A., 2016 - Natural phyto-bioactive compounds for the treatment of type 2 diabetes: inflammation as a target. *Nutrients*, 8, 461.
355. Sodmergen, H., Kuroiwa, N., Nagata., 1997 – Quantitative study of organelle nucleoids during the second pollen grain mitosis in *Oenothera biennis*. *Protoplasma*, 198: 66-72,
356. Söğütü, İ., Koç İ., Mert H., Mis L., Mert N., 2019 - The Effect of Evening Primrose Oil (*Oenothera biennis*) on Insulin, Resistin and Adiponectin in Experimental Diabetes Induced by STZ STZ Ile Oluşturulan Deneysel Diabette Çuha Çiçeği Yağının (*Oenothera biennis*) İnsülin, Resistin ve Adiponektin Üzerine Etki. *Van Veterinary Journal*, 30(3): 193–96.
357. Song, F. L., Gan, R. Y., Zhang, Y., Xiao, Q., Kuang, L., Li, H. B., 2010 - Total phenolic contents and antioxidant capacities of selected Chinese medicinal plants. *International journal of molecular sciences*, 11(6), 2362–2372.
358. Song, X. Q., Sun, J., Yu, J. H., Zhang, J. S., Bao, J., Zhang, H., 2020a - Prenylated Indole Alkaloids and Lignans from the Flower Buds of *Tussilago farfara*. *Fitoterapia*, 146, 104729.
359. Song, X. Q., Yu, J. H., Sun, J., Liu, K. L., Zhang, J. S., Zhang, H., 2021 - Bioactive Sesquiterpenoids from the Flower Buds of *Tussilago farfara*. *Bioorganic Chemistry*, 107, 104632.

360. Song, X., Tiancheng W., Zecai Z., Haichao J., Wei W., Yongguo C., Naisheng Z., 2014 - Leonurine exerts anti-inflammatory effect by regulating inflammatory signaling pathways and cytokines in LPS-induced mouse mastitis. *Inflammation* 38 (September).
361. Soorni, A., Nazeri, V., Fatahi, R., 2014 - Multivariate analysis of motherwort germplasm in Iran using morphological variables and essential oil content. *Plant Systematics and Evolution*, 300, 925–935.
362. Stace, C.A., 1997 - *New Flora of the British Isles*, 2nd edn. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
363. Steckel, L.E., Sosnoskie, L.M., Steckel, S.J., 2019 - Common evening-primrose (*Oenothera biennis* L.). *Weed Technology*, 33: 757–760.
364. Stevens, E. J., Carrington, A. L., Tomlinson, D. R., 1993b - Prostacyclin release in experimental diabetes: effects of evening primrose oil. Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids, 49(3): 699–706.
365. Stevens, E. J., Lockett M. J., Carrington A. L., Tomlinson D. R., 1993a - Essential Fatty Acid Treatment Prevents Nerve Ischaemia and Associated Conduction Anomalies in Rats with Experimental Diabetes Mellitus. *Diabetologia*, 36(5): 397–401.
366. Stonemetz D., 2008 - A review of the clinical efficacy of evening primrose. *Holistic nursing practice*, 22(3): 171–174.
367. Sugano, M., Ide, T., Ishida, T., Yoshida, K., 1986 - Hypocholesterolemic Effect of Gamma-Linolenic Acid as Evening Primrose Oil in Rats. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 30(5): 289–99.
368. Sultana, S., Ali, M., Mir, S. R., 2018 - Chemical Constituents From the Roots of *Oenothera biennis* L. *UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences*, 6(2): 29-35.
369. Sun, J., Yu, J. H., Zhang, J. S., Song, X. Q., Bao, J., Zhang, H. 2019 - Chromane Enantiomers from the Flower Buds of *Tussilago farfara* L. and Assignments of Their Absolute Configurations. *Chemistry & biodiversity*, 16(3), e1800581.
370. Süntar, I., 2020 - Importance of ethnopharmacological studies in drug discovery: role of medicinal plants. *Phytochemistry Reviews*, 19, 1199–1209.
371. Suručić R., Šmitran A., Gajić D., Božić L., Antić M., Topić-Vučenović V., Umičević N., Antunović V., Jelić D., 2021 - Phytosynthesis of zinc oxide nanoparticles with acetonic extract of flowers of *Geranium robertianum* L. (Geraniaceae). *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 34(5): 66-70.
372. Suyal, R., Rawat, S., Rawal, R.S., Bhatt, I.D., 2020 - Variability in morphology, phytochemicals, and antioxidants in *Polygonatum verticillatum* (L.) All. populations under different altitudes and habitat conditions in Western Himalaya, India. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191(Suppl. 3), 783.
373. Świeboda, M., Brunarska, Z., 1975 - *Tussilago farfara* L. - a plant relatively resistant to industrial air pollution. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 44(2): 189-202.
374. Szentmihályi, K., May, Z., Süle, K., Then, M., 2013 - Mineral Content of Some Herbs and Plant Extracts with Anti-Inflammatory Effect Used in Gastrointestinal Diseases. *Orvosi Hetilap*, 154(14): 538–543.
375. Tahmouzi S., Ghodsi M., 2014 - Optimum extraction of polysaccharides from motherwort leaf and its antioxidant and antimicrobial activities. *Carbohydrate Polymers*, 112: 396–403.
376. Tajner-Czopek, A., Gertchen, M., Rytel, E., Kita, A., Kucharska, A. Z., Sokół-Łętowska, A., 2020 - Study of Antioxidant Activity of some Medicinal Plants Having High Content of Caffeic Acid Derivatives. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 9(5), 412.
377. Takahashi, M., Skvarla, J. J., 1990 - Pollen Development in *Oenothera biennis* (Onagraceae). *American Journal of Botany*, 77(9): 1142–1148.
378. Talbot, M.J., White, R.G., 2013 - Methanol fixation of plant tissue for Scanning Electron Microscopy improves preservation of tissue morphology and dimensions. *Plant Methods* 9, 36.

379. Thakur, U., Dutt, B., Sharma, S. S., Sharma, K. R., Thakur, N., 2019 - Evening Primrose (*Oenothera biennis* L.): Morphology and Reproductive Biology. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 8(10): 1400–1409.
380. The Plant List, 2013 - Version 1.1. Publicat pe Internet; <http://www.theplantlist.org/> [Accesat la data 22.06.2021].
381. Tiță, I., Mogoșanu, G. D., Tiță, M. G. 2009 - Ethnobotanical inventory of medicinal plants from the south-west of Romania. Farmacia, 57(2): 141-156.
382. Toby, G., Denham A., Whitelegg, M., 2011 - Chapter 30 - *Tussilago farfara*, coltsfoot. În: Toby, G., Denham A., Whitelegg M. (ed). Medicinal herbs, Ed. Churchill Livingstone, pp. 317-326.
383. Todorov, D., Hinkov, A., Shishkova, K., Shishkov, S., 2014 - Antiviral potential of Bulgarian medicinal plants. Phytochemistry Reviews, 13(2): 525–538.
384. Tofts R. J., 2004 – Biological Flora of the British Isles, List Br. Vasc. Pl. (1958) no. 168, 16, *Geranium robertianum* L., Journal of Ecology, 92(234): 537-555.
385. Toma, C., Rugina, R., 1998 - Anatomia plantelor medicinale – Atlas. Edit. Academiei Române, București, pp. 120-121.
386. Tomlinson, D.R., Robinson, J.P., Compton, A.M., Keen, P., 1989 - Essential Fatty Acid Treatment? Effects on Nerve Conduction, Polyol Pathway and Axonal Transport in Streptozotocin Diabetic Rats. Diabetologia, 32(9): 655–59.
387. Tonelli, C., Chio, I. I. C., Tuveson, D. A., 2018 - Transcriptional Regulation by Nrf2. Antioxidants & Redox Signaling, 29(17): 1727–45.
388. Tosun, F., Akyüz Kızılay, Ç., Şener, B., Vural, M., 2005 - The Evaluation of Plants from Turkey for *in Vitro*. Antimycobacterial Activity. Pharmaceutical Biology, 43(1): 58–63.
389. Tsusaka, T., Makino, B., Ohsawa, R., Ezura, H., 2019 - Genetic and environmental factors influencing the contents of essential oil compounds in *Atractylodes lancea*. PLoS ONE 14(5): e0217522.
390. Turker, A. U., Usta, C., 2008 - Biological screening of some Turkish medicinal plant extracts for antimicrobial and toxicity activities. Natural Product Research, 22(2), 136–146.
391. Uccella, R., Contini, A., Sartorio, M., 1989 - L'azione dell'olio di "evening primrose" sui fattori di rischio cardiovascolare dei diabetici insulino-dipendenti [Action of evening primrose oil on cardiovascular risk factors in insulin-dependent diabetics]. La Clinica terapeutica, 129(5): 381–388.
392. Upton, R., Graff, A., Jolliffe, G., Langer, R., Williamson, E., Swisher, D., 2011 - Botanical pharmacognosy – microscopic characterization of botanical medicines. American Herbal Pharmacopoeia, U.S.: 662-667.
393. Uysal, S., Senkardes, I., Mollica, A., Zengin, G., Bulut, G., Dogan, A., Glamočlija, J., Soković, M., Lobine D., Mahomoodally, F. M., 2018 - Biologically active compounds from two members of the Asteraceae family: *Tragopogon dubius* Scop. and *Tussilago farfara* L. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 37(12): 3269–3281.
394. Uzun, E., Sariyar, G., Adersen, A., Karakoc, B., Otük, G., Oktayoglu, E., Pirildar, S., 2004 - Traditional medicine in Sakarya province (Turkey) and antimicrobial activities of selected species. Journal of ethnopharmacology, 95(2-3): 287–296.
395. Vanhaelen, M., Lejoly, J., Hanocq, M., Molle, L., 1991 - Climatic and geographical aspects of medicinal plant constituents. În: Wijesekera, R.O.B., (Ed.) The Medicinal Plant Industry. CRC Press: Boca Raton, FL, USA, pp. 59–76.
396. Vereschagin, V. I., Sobolevskaya, K. A., Yakubova, A. I., 1959 - Useful Plants of West Siberia. Publishing of Academy of Science of USSR, Moscow-Leningrad.
397. Vermeil, H., 2002 - Useful grass. Illustrated Encyclopedia: Motherwort common (Russian, translation from English), Labyrinth Press, Moscow.

398. Villalobos, M. A., De La Cruz, J. P., Martín-Romero, M., Carmona, J. A., Smith-Agreda, J. M., Sánchez de la Cuesta, F., 1998 - Effect of dietary supplementation with evening primrose oil on vascular thrombogenesis in hyperlipemic rabbits. *Thrombosis and haemostasis*, 80(4): 696–701.
399. Wagner, W.L., 2017 - *Oenothera*. http://ucjeps.berkeley.edu/eflora/eflora_display.php?tid=9766. [Accesat la data 29.04.2019].
400. Wang, Z., Shigang S., Ze C., Hailiang N., Dandan H., Hongyuan Y., 2019 -Screening and Isolating Major Aldose Reductase Inhibitors from the Seeds of Evening Primrose (*Oenothera biennis*). *Molecules*, 24(15): 2709.
401. Wang, Z., Zhaoyang W., Guanglei Z., Soon S. L., Hongyuan Y., 2021 - Defatted Seeds of *Oenothera biennis* as a Potential Functional Food Ingredient for Diabetes. *Foods*, 10(3): 538.
402. Watson, D.F., Philip, G.M., 1985 - A Refinement of Inverse Distance Weighted Interpolation. *Geoprocessing*, 2, 315–327.
403. Wawrosh, C., Kopp, B., Wiedenfeld, H., 2000 - Permanent monitoring of pyrrolizidine alkaloid content in micropropagated *Tussilago farfara* L.: a tool to fulfill statutory demands for the quality of coltsfoot in Austria and Germany. *Acta Horticulturae*, 530, 469–472.
404. Weber, M., 1996a - The existence of a special exine coating in *Geranium robertianum* pollen. *International Journal of Plant Sciences*, 157, 195–202.
405. Weber, M., 1996b - Apertural chambers in *Geranium*: development and ultrastructure. *Sexual Plant Reproduction*, 9, 102–106.
406. WFO [World Flora Online] 2023 - Geraniaceae Juss. Published on the Internet: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-7000000245> [Accesat la data 27.01.2023].
407. WFO [World Flora Online] 2023 - *Geranium robertianum* L. Published on the Internet: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000701246> [Accesat la data 27.01.2023].
408. WFO [World Flora Online] 2023 - Lamiaceae Martinov. Published on the Internet: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-7000000318> [Accesat la data 14.07.2023].
409. WFO [World Flora Online] 2023 - *Leonurus cardiaca* L. Published on the Internet: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000224637> [Accesat la data 14.07.2023].
410. WFO [World Flora Online] 2023 - *Leonurus* L. Published on the Internet: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000021038> [Accesat la data 14.07.2023].
411. WFO [World Flora Online] 2023 - *Oenothera biennis* L. Published on the Internet: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000389564> [Accesat la data 28.09.2023].
412. WFO [World Flora Online] 2023 - *Oenothera* L. Published on the Internet: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000026653> [Accesat la data 28.09.2023].
413. WFO [World Flora Online] 2023 - Onagraceae Juss. Published on the Internet: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-7000000424> [Accesat la data 28.09.2023].
414. WFO [World Flora Online] 2023 - *Tussilago farfara* L. Published on the Internet; <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000117140> [Accesat la data 27.11.2023].
415. WFO [World Flora Online], 2024 - *Oenothera biennis* L. Published on the Internet; <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000389564>. [Accessat la 02.10.2024].
416. WHO [World Health Organization], 2000 - General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine.
417. WHO [World Health Organization], 2025 - Global traditional medicine strategy 2025–2034.
418. Wojtyniak, K., Szymański, M., Matławska, I., 2013- *Leonurus cardiaca* L. (Motherwort): A Review of its Phytochemistry and Pharmacology. *Phytotherapy Research*, 27(8): pp. 1115–1120. <https://doi.org/10.1002/ptr.4850>.

419. Wu, H., Dai, A., Chen, X., Yang, X., Li, X., Huang, C., Jiang, K., Deng, G. 2018 - Leonurine ameliorates the inflammatory responses in lipopolysaccharide-induced endometritis. *International immunopharmacology*, 61, 156–161.
420. Wu, Q.Z., Zhao, D.X., Xiang, J., Zhang, M., Zhang, C.F., Xu, X.H., 2016 - Antitussive, expectorant, and anti-inflammatory activities of four caffeoylquinic acids isolated from *Tussilago farfara*. *Pharmaceutical Biology*, 54(7):1117-1124.
421. Wu, Y., Zhao, X., Cui, J., Guo, Y., Zheng, X., Zhang, Y., Niu, M., Li, Z., Wen, S., Gao, W., 2021 - Petroleum Extract of *Farfarae Flos* Alleviates Nasal Symptoms by Regulating the Th1-Th2 Cytokine Balance in a Mouse Model of Allergic Rhinitis. *International Journal of Medical Sciences*, 18(2): 555–563.
422. Wulff, A., Anttonen, S., Pellinen, R., Savonen, E.M., Sutinen, M.L., Heller, W., Sandermann, H.J., Kangasjärvi, J., 1999 -Birch (*Betula pendula* Roth.) responses to high UV-B radiation. *Boreal Environment Research*, 4, 77–88.
423. Xu, D., Chen, M., Ren, X., Ren, X., Wu, Y., 2014 - Leonurine ameliorates LPS-induced acute kidney injury via suppressing ROS-mediated NF- κ B signaling pathway. *Fitoterapia*, 97, 148–155.
424. Xu, L. T., Wang, T., Fang, K. L., Zhao, Y., Wang, X. N., Ren, D. M., Shen, T., 2022 - The Ethanol Extract of Flower Buds of *Tussilago farfara* L. Attenuates Cigarette Smoke-Induced Lung Inflammation through Regulating NLRP3 Inflammasome, Nrf2, and NF-KB. *Journal of Ethnopharmacology*, 283, 114694.
425. Yahfoufi, N., Alsadi, N., Jambi, M., Matar, C., 2018 - The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols. *Nutrients*, 10(11), 1618.
426. Yang, L., Jiang, H., Wang, S., Hou, A., Man, W., Zhang, J., Guo, X., Yang, B., Kuang, H., Wang, Q., 2020 - Discovering the Major Antitussive, Expectorant, and Anti-Inflammatory Bioactive Constituents in *Tussilago farfara* L. Based on the Spectrum-Effect Relationship Combined with Chemometrics. *Molecules* (Basel, Switzerland), 25(3), 620.
427. Yeo, P. F., 1985 – Hardy *Geraniums*, Croom-Helm, London, UK.
428. Yi, W., Wetzstein, H. Y., 2011 - Effects of Drying and Extraction Conditions on the Biochemical Activity of Selected Herbs. *HortScience*, 46(1): 70–73.
429. Yoshida, T., Chou, T., Matsuda, M., Yasuhara, T., Yazaki, K., Hatano, T., Nitta, A., Okuda, T., 1991 - Woodfordin D and Oenothien A, Trimeric Hydrolyzable Tannins of Macro-Ring Structure with Antitumor Activity. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 39(5): 1157–62.
430. Zaitone, Sawsan, A., Moustafa, Y. M., Mosaad, S. M., El-Orabi, N. F., 2011 - Effect of Evening Primrose Oil and Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids on the Cardiovascular Risk of Celecoxib in Rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 58(1): 72–79.
431. Zeppa, L., Aguzzi, C., Versari, G., Luongo, M., Morelli, M. B., Maggi, F., Amantini, C., Santoni, G., Marinelli, O., Nabissi, M., 2022 - Evening Primrose Oil Improves Chemotherapeutic Effects in Human Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Cell Lines-A Preclinical Study. *Pharmaceuticals* (Basel, Switzerland), 15(4): 466.
432. Zhan, X., Chen, Z., Chen, R., Shen, C., 2022 - Environmental and Genetic Factors Involved in Plant Protection-Associated Secondary Metabolite Biosynthesis Pathways. *Frontiers in plant science*, 13, 877304.
433. Zhang, J., Zhang, Z., Wang, Y., Zuo, Y., Cai, C., 2020 - Environmental impact on the variability in quality of *Gentiana rigescens*, a medicinal plant in southwest China, *Global Ecology and Conservation*, 24, e01374.
434. Zhang, R.-H., Liu, Z.-K., Yang, D.-S., Zhang, X.-J., Sun, H.-D., Xiao, W.-L., 2018 - Phytochemistry and pharmacology of the genus *Leonurus*: The herb to benefit the mothers and more. *Phytochemistry*, 147, 167–183.
435. Zhao, J., Evangelopoulos, D., Bhakta, S., Gray, A. I., Seidel, V., 2014 - Antitubercular Activity of *Arctium lappa* and *Tussilago farfara* Extracts and Constituents. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(1): 796–800.
436. Zhi, H.J.; Qin, X.M.; Sun, H.F.; Zhang, L.Z.; Guo, X.Q.; Li, Z.Y., 2012 - Metabolic fingerprinting of *Tussilago farfara* L. using H-NMR spectroscopy and multivariate data analysis. *Phytochemical Analysis: PCA*, 23(5): 492–501.

437. Zhogova, A. A., Perova I. B., Samylina I. A., Eller K. I., Ramenskaya G. V., 2014 - identification and quantitative determination of the main biologically active substances in motherwort herb by HPLC–Mass Spectrometry. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 48(7): 461–66.
 438. Zinsmeister, H.D., Bartl, S., 1971 - The phenolic compounds of *Oenothera*. *Phytochemistry*, 10, 3129–3132.
 439. Ziyatdinova, G., Kozlova E., Morozova E., Budnikov H., 2018 - Chronocoulometric method for the evaluation of antioxidant capacity of medicinal plant tinctures. *Analytical Methods*, 10(41): 4995–5003.
 440. Ziyatdinova, G., Snegureva, Y., Budnikov, H., 2017 - Novel approach for the voltammetric evaluation of antioxidant activity using DPPH -modified electrode. *Electrochimica Acta*, 247, 97–106.
 441. Zlatev, Z., Lindon, F. C., 2012 - An overview on drought induced changes in plant growth, water relations and photosynthesis. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 24(1): 57-72.
 442. Zomlefer, W.B., 1994 - *Guide to Flowering Plant Families*. Chapel Hill, NC: University of North Carolina Press. p. 430.
- ***https://play.google.com/store/apps/details?id=com.developers.gps&pcampaignid=web_share [Accesat la data 3.06.2020].
- ***<https://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/PTaxonDetail.asp?NameCache=Leonurus%20cardiaca&PTRefFk=8000000> [Accesat la data 14.07.2023].
- ***<https://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/PTaxonDetail.asp?NameCache=Oenothera%20biennis&PTRefFk=7100000>
- ***<https://www.gps-coordinates.net/> [Aaccesat la data 20.06.2020].

ANEXA 1

Conținutul Anexei 1, în completarea Capitolului 3. Materiale și metode - 3.3.2. Metoda spectrometriei de masă prin cromatografie lichidă (LC/MS) și Lista activității științifice pot fi consultate la link-ul următor:

<https://drive.google.com/file/d/1Wuq4iYDDHumj9acoVFiabx2bwt4HX1Zv/view?usp=sharing>