

REZUMAT

Al tezei de doctorat intitulată:

“Cercetări privind activitatea antimicrobiană a unor extracte vegetale din plante autohtone”

Elaborată de drd. Steliana PETRACHE (RODINO) sub îndrumarea științifică a Prof. Univ. Dr.
Petruța Călina CORNEA.

Cuvinte cheie: *extracte de plante, activitate antibacteriana, activitate antifungică, activitate antioxidanta, polifenoli, flavonoide.*

Plantele reprezintă o sursă inepuizabilă, ieftină și la îndemână, cu multiple întrebuințări în viața de zi cu zi a oamenilor. Totodată, plantele sunt o resursă de agenți antimicrobieni insuficient exploatată și demnă de întreaga atenție a cercetătorilor. A fost deja demonstrat potențialul antibacterian al metaboliților secundari din plante, atât în monoterapie, cât și ca sinergici sau potențatori, alături de alți agenți antibacterieni. Utilizarea produselor fitochimice și a extractelor din plante ca agenți antimicrobieni reprezintă un subiect de cercetare din ce în ce mai atractiv la nivel global. Cercetările moderne privind agenții antimicrobieni din plante își găsesc aplicabilitatea în domenii precum *medicina umană și veterinară, conservarea alimentelor și protecția plantelor*.

Obiectivul cercetării doctorale a fost studierea activității antimicrobiene a unor extracte din plante autohtone, urmărind crearea unui portofoliu de rezultate științifice obținute prin cercetare precompetitivă, pe baza cărora să poată fi dezvoltate proiecte de cercetare aplicativă direcționate pe domenii ca medicină umană și veterinară, fitoprotecție, industria cosmetică și alimentară.

Teza de doctorat este structurată în două secțiuni, respectiv, prima parte studiul bibliografic și partea a doua – cercetări proprii, alături de rezumatul tezei, cuprins, si bibliografie. Aceste doua secțiuni, cuprind șase capitole, după cum urmează: trei capitole de documentare și trei capitole de cercetare experimentală (dintre care unul este de concluzii). Lucrarea cuprinde un număr de 67 de figuri, din care 57 originale, și un număr de 23 de tabele din care 15 originale.

Capitolul I al tezei, cuprinde studiul bibliografic în care sunt prezentate informații din literatura de specialitate în domeniul tezei prin descrierea unor considerații generale, fiind ilustrat în primul rând contextul global al cercetărilor existente în domeniu, și un scurt istoric, în exemple, al stadiului cercetărilor actuale cu privire la utilizarea unor extracte vegetale, în vederea exploatării

acțiunii antimicrobiene și antioxidante a acestora, atât la nivel internațional cât și la nivel național. Așadar, este prezentat stadiul cercetărilor pe plan internațional fiind punctate efectele extractelor vegetale asupra microorganismelor de interes medical, utilizarea extractelor vegetale în industria alimentară, cât și utilizarea extractelor vegetale cu efecte antimicrobiene în agricultură. Pe plan național, este punctată pe de o parte, acțiunea antibacteriană a unor extracte vegetale, cât și acțiunea antifungică a acestora și semnificația lor pentru protecția plantelor.

Capitolul al II-lea, cuprinde o descriere pe scurt a compușilor biologic activi din plante, clasificarea acestora și rolul pe care îl îndeplinesc în mecanismul de apărare al plantelor, cu un accent deosebit pe compușii de interes în exercitarea activității antimicrobiene și antioxidante, și anume: terpenoide, polifenoli și alcaloizi.

În continuare, în *capitolul al III-lea* sunt prezentate procedee de extracție a compușilor bioactivi din plante, cu o succintă trecere în revistă a metodelor convenționale și neconvenționale. De asemenea, acest capitol cuprinde și o analiză a parametrilor de extracție, cu posibilitățile de optimizare a acestora în vederea obținerii unor randamente crescute, în funcție de compușii de interes.

Începând de la *capitolul al IV-lea* al tezei, intitulat ***Materiale și metode***, urmează partea a doua a tezei de doctorat. Capitolul al IV-lea cuprinde descrierea amănunțită a materialelor și metodelor necesare în schema experimentală, materialul vegetal luat în lucru și procesarea acestuia, microorganismele utilizate în testele antimicrobiene și obținerea extractelor vegetale selectate. De asemenea, sunt descrise tehnicile de evaluare a acțiunii antimicrobiene și antioxidante a extractelor vegetale și metodele de evaluare a compușilor biologic activi. La final este detaliată metodologia de testare a efectelor extractelor vegetale asupra organismelor vegetale.

Capitolul al V-lea, intitulat ***Rezultate și discuții*** oferă o imagine a rezultatelor obținute în urma cercetării activității antimicrobiene a extractelor vegetale obținute dintr-un număr de douăsprezece specii de plante autohtone, și anume: ***Arctium lappa* (brusture)**, ***Artemisia absinthium* (pelin)**, ***Datura stramonium* (ciumăfaie)**, ***Equisetum arvense* (coada calului)**, ***Glycyrrhiza glabra* (lemn dulce)**, ***Humulus lupulus* (hamei)**, ***Rosmarinus officinalis* (rozmarin)**, ***Sambucus ebulus* (boz)**, ***Sambucus nigra* (soc)**, ***Tagetes patula* (crăițe)**, ***Taraxacum officinale* (papadie)** și ***Xanthium strumarium* (corneti)**. Capitolul este divizat în 8 subcapitole, grupate în funcție de materialul vegetal luat în studiu și de microorganismele utilizate sau aplicațiile posibile ale exploatării potențialului antimicrobian al extractelor vegetale.

Extinderea fenomenului de rezistență la antibiotice a bacteriilor patogene reprezintă o problemă importantă care afectează sănătatea umană și posibilitatea tratării eficiente a infecțiilor

produse de asemenea tulpini. De aceea, preocupările specialiștilor pentru identificarea și utilizarea unor compuși antimicrobieni naturali, proveniți din material vegetal sunt în continuă creștere. Pornind de la aceste considerente, un prim aspect examinat în cadrul acestei teze a fost acela al evidențierii activității antibacteriene a unor extracte vegetale, fapt materializat în subcapitolul ***Activitatea antibacteriană a unor extracte din plante medicinale***. În experimente au fost folosite extracte alcoolice și apoase provenite din diferite părți ale unor plante din flora autohtonă, ele fiind testate față de tulpini bacteriene patogene sau potențial patogene pentru om sau animale: *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus* și *Staphylococcus aureus*. Mai mult decât atât, pentru extractele care au prezentat cea mai bună activitate în urma evaluării antibacteriene a urmat caracterizarea biochimică. Pentru aceasta, s-a efectuat determinarea cantitativă a conținutului de polifenoli totali și a conținutului de flavonoide. Rezultatele obținute au fost folosite pentru a compara extractele vegetale obținute prin diferite metode de extracție. Dintre extractele luate în studiu, extractele alcoolice provenite din rădăcini de *G. glabra* (lemn dulce) preparate prin ultrasonicare, au evidențiat cele mai puternice efecte antibacteriene.

Mai nou, cerințele crescute ale consumatorilor pentru produse „bio” provenite din plante care nu au fost tratate cu compuși chimici „tradiționali” de protecție sau stimulare au condus la evaluarea unor alternative la acestea. De aceea, în cadrul experimentelor efectuate au fost realizate extracte care au fost testate pentru efectele inhibitoare față de patogenul *Rhizoctonia solani*. Alegerea pentru testarea speciei *Rhizoctonia solani* s-a datorat faptului că aceasta este polifagă, atacând și producând pagube însemnate la mai multe specii din familia Solanaceae (cartof, tomate, vinete, ardei), producând căderea și apoi moartea plantelor în faza de răsad. Rezultatele obținute în urma evaluării efectului diferitelor concentrații ale extractelor din plante asupra creșterii miceliului de *R. solani*, se regăsesc în subcapitolul 5.2 al tezei de doctorat, ***Cercetări privind eficacitatea in vitro a unor extracte vegetale împotriva infecției cu Rhizoctonia solani***. Din rezultatele obținute, s-a observat că extractele din crăițe, lemn dulce și soc posedă o ridicată activitate antifungică *in vitro* împotriva *R. solani*.

În urma unor ***Cercetări preliminare privind activitatea antifungică a unor extracte din plante împotriva Pythium sp.***, (subcapitolul 5.3) și mai exact după testarea comparativă a unor metode de testare a activității antifungice a extractelor vegetale, metoda încorporării extractelor în mediul de cultură a fost selectată ca fiind cea mai eficientă în obținerea unor rezultate clare. Astfel, în cadrul experimentelor efectuate au fost evaluate o serie de extracte vegetale obținute din flori de crăițe (*Tagetes patula*), rădăcină de lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*), frunze de brusture (*Arctium*

lappa), părțile aeriene de coada calului (*Equisetum arvense*) și fructe de soc (*Sambucus nigra*) în privința efectelor inhibitoare pentru dezvoltarea unor tulpini de *Pythium sp.* extractele din crăițe (*T. patula*) și lemn-dulce (*G. glabra*) au evidențiat o activitate antifungică ridicată împotriva fitopatogenului *Pythium sp.* chiar și la concentrații scăzute.

În continuare, atenția s-a îndreptat către ***Cercetări privind activitatea antifungică a unor extracte vegetale față de Alternaria alternata*** (subcapitolul 5.4). *Alternaria* reprezintă un gen de fungi cu numeroase specii, capabile de un mod de viață saprofit sau parazit. Speciile acestui gen pot afecta un număr mare de specii de plante de interes economic (tomate, grâu, sorg, orz, floarea-soarelui, rapiță, bumbac ș.a.), producând în acest fel pierderi importante de recoltă. În experimentele prezentate au fost utilizate extracte alcoolice și apoase provenite din diferite organe ale unor plante din patru specii, două de plante medicinale și două de buruieni (*Artemisia absinthium*, *Rosmarinus officinalis*, *Datura stramonium*, *Xanthium strumarium*), cu rezultate superioare pentru extractul etanolic de *X. strumarium*, la toate concentrațiile testate. Alegerea ca materie primă a unor specii de buruieni pentru obținerea unor produse fungicide derivate din plante poate duce la o metodă ecologică de combatere a bolii, furnizând în același timp o soluție pentru managementul buruienilor culturilor agricole și facilitând utilizări economice pentru aceste specii nedorite.

În următorul subcapitol, ***Controlul manei tomatelor cu extracte obținute din Artemisia absinthium***, scopul studiului l-a reprezentat compararea activității antifungice a unor probe de pelin provenite din zone geografice diferite ale țării noastre. Rezultatele obținute au evidențiat faptul că extractele alcoolice obținute din pelin posedă un efect inhibitor asupra creșterii miceliului de *P. infestans*, indiferent de zona de recoltare a materialului vegetal. Deși activitatea antimicrobiană a prezentat intensitate diferită, din punct de vedere statistic nu există diferențe semnificative între efectul produs de cele trei extracte din zone diferite. Acest lucru punctează de fapt disponibilitatea dezvoltării ulterioare a unui produs pe bază de extracte vegetale, care poate fi preparat și utilizat indiferent de sursa de materie primă.

Toate experimentele anterioare au evidențiat faptul că extractele provenite din diverse specii de plante sunt capabile să inhibe, în condiții *in vitro* dezvoltarea miceliului unor specii de fungi fitopatogeni. Ținând cont de aceste rezultate, în cadrul unei alte serii de experimente a fost realizată o investigație complexă a efectelor antimicrobiene (antibacteriene și antifungice) ale unor extracte provenite din plante de *Sambucus ebulus* (boz) și *Humulus lupulus* (hamei) precum și a conținutului în polifenoli și flavonoide și activității antioxidante.

În ultimul subcapitol, pentru a putea avea o imagine mai bună a efectelor extractelor vegetale care au dovedit proprietăți antifungice, acestea au fost testate direct pe plante în mai multe variante experimentale:

- Evidențierea efectelor antifungice (împotriva fitopatogenului *Phytophthora infestans*) prin teste pe frunze detașate;
- Stabilirea impactului extractelor vegetale asupra procesului de germinație;
- Evidențierea efectului protector al tratamentelor la sol cu extracte vegetale față de infecția cu *Rhizoctonia solani*.

Rezultatele obținute permit concluzia că extractele de crăițe și hamei ar putea fi utilizate ca agenți de biocontrol pentru prevenirea infecțiilor cu *R. solani*, la nivel de sol și cu *P. infestans* la nivel de frunze.

Capitolul al VI-lea, Concluzii, cuprinde concluziile generale ale experimentelor efectuate și sublinierea contribuțiilor originale la studiul activității antimicrobiene a extractelor obținute din plante autohtone și la posibilele aplicații practice ale acestora în industrie.

Problema abordată, precum și soluțiile propuse în aceasta lucrare oferă un grad ridicat de noutate. ***Aceasta rezultă din valorificarea unor specii de plante mai puțin studiate (plante medicinale și aromatice, plante cultivate sau din flora spontană) prin aplicații diferite de cele pentru care au fost deja recunoscute.***

Impactul prezentei cercetări doctorale este susținut prin faptul că rezultatele obținute au aplicabilitate, utilitate și eficiență economică fiind direcționate spre conceperea de soluții viabile și ecologice pentru proiectarea unor produse terapeutice ce pot fi utilizate în medicină sau protecția plantelor.

De asemenea, aceasta cercetare doctorală a dus la creșterea vizibilității cercetării românești prin participări la manifestări științifice și diseminarea rezultatelor în referate doctorale și articole publicate în reviste științifice.