



# UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRONOMICE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ BUCUREȘTI

Facultatea de Management, Inginerie Economică în  
Agricultură și Dezvoltare Rurală



## TEZĂ DE DOCTORAT

### CERCETĂRI PRIVIND MANAGEMENTUL TEHNOLOGIEI ȘI VALORIFICAREA SPECIEI „ARNICA MONTANA L.”

Conducător științific:  
Prof.dr. GHEORGHE SIN

Doctorand:  
IULIANA - RUXANDRA PANCIU

BUCUREȘTI  
2016

## REZUMAT

*Arnica montana L.* cunoscută sub denumirea populară de arnica sau carul zânelor, se întâlnește în țara noastră pe pășunile și fânețele din zona montană și subalpină, cu precădere în munții Apuseni.

Datorită faptului că *Arnica montana L.* este o plantă medicinală bogată în principii active cu acțiune complexă (antiseptică, antiinflamatoare, bacteriostatică și fungică, coleretică, diuretică, hipotensivă etc.), exploatarea plantei din flora spontană este efectuată la maxim, acest lucru ducând, într-un final, la dispariția speciei.

Importanța socială și economică a speciei *Arnica montana L.* a condus la măsuri agrotehnice și agrobiologice de creștere a producției, precum și sporirea continuă a conținutului în substanțe active și a purității materiei prime prin inducerea în cultură a speciei din flora spontană.

Sub aspect fitoterapeutic, *Arnica montana L.* își datorează acțiunea terapeutică prezenței uleiului volatil, inflorescențele (*Arnicae flos*), conțin ulei volatil între 0,05-3,8%, în funcție de materialul biologic și condițiile de vegetație, precum și alcoolii triterpenici, carotenoide, pigmenți galbeni și alți compuși. Utilizarea uleiurilor volatile a dezvoltat o nouă subramură a fitoterapiei, și anume, aromaterapia.

Având în vedere importanța medicinală, și nu numai, a speciei *Arnica montana L.* cât și îndreptarea populației către medicina naturistă, este necesară realizarea unor studii complexe cu privire la introducerea plantei în cultură.

Prin cercetările efectuate în teza de doctorat privind managementul speciei *Arnica montana L.*, considerăm că vom reuși să aducem o modestă contribuție la cunoașterea plantei și crearea de noi culturi în condiții similare celor analizate în comuna Corbeni, județul Argeș. De asemenea, cercetările privind înmulțirea *in vitro*, germinarea pe substrat solid, inducerea în cultură a speciei precum și analiza efectuată în flora spontană din comuna Gârda de Sus, județul Alba, va aduce un plus de informație celor ce studiază planta *Arnica montana L.*

Studiile efectuate pentru elaborarea tezei de doctorat intitulată: "Cercetări privind managementul tehnologiei și valorificarea speciei *Arnica montana L.*" s-a desfășurat în câmpul experimental din comuna Corbeni, județul Argeș precum și în flora spontană din comuna Gârda de Sus, județul Alba. Cercetările efectuate în condiții de laborator s-au desfășurat în două etape, prima etapă a vizat analiza comparativă a eficienței obținerii *in vivo* de plante înrădăcinate prin

germinarea normală a semințelor pe diferite substraturi, comparativ cu inducerea și stimularea germinării semințelor *in vitro* și folosirea plantulelor germinate aseptice ca sursă de explante pentru multiplicarea *in vitro* la nivele optimizate, precum și evaluarea creșterii și regenerării plantelor *in vitro* comparativ cu cele *in vivo*, în vederea utilizării pentru inițierea culturii. Experiențele au fost efectuate în Laboratorul de Citobiologie Vegetală din cadrul Institutului de Biologie, București. Iar cea de-a doua etapă a vizat determinarea procentului de umiditate al capitulelor florale și uscarea lor, pregătirea probelor pentru extragerea uleiurilor, determinarea principiilor active, analiza uleiurilor extrase. Experiențele au fost efectuate în Laboratorul de analize fizico-chimice din cadrul Institutului Național de Mașini Agricole.

Printre motivele care au condus la aceste cercetări se pot enumera următoarele aspecte:

- necesitatea cunoașterii multiplicării *in vitro* cât mai eficiente a plantei, obținând o regenerare cât mai eficientă și plante mai stabile din punct de vedere genetic;
- necesitatea identificării parametrilor necesari germinării și dezvoltării plantelor semănate în diferite substraturi;
- necesitatea cunoașterii condițiilor de cultură și răspunsul speciei în cultură;
- necesitatea cunoașterii bolilor și dăunătorilor precum și influența acestora în ceea ce privește producția și calitatea acesteia;
- necesitatea studiului privind cercetarea dezvoltării speciei în flora spontană;
- necesitatea studiului privind principiile active conținute în inflorescențele de *Arnica montana* L. obținute prin multiplicare *in vitro*, semănat pe diferite substraturi sau prin colectare din flora spontană.

Scopul cercetărilor tezei de doctorat l-a reprezentat cunoașterea managementului speciei *Arnica montana* L. prin compararea a două medii de dezvoltare a plantei, mediul natural din zona Gârda de Sus, județul Alba și cultură obținută, în zona Corbeni, județul Argeș, din plante obținute în condiții de laborator.

Obiectivele cercetărilor lucrării au constat în:

- obținerea de material vegetal prin multiplicare *in vitro*, *in vivo* și semănare direct în substrat solid;
- inițierea culturii din plantele obținute în laborator;
- observații în pajiștile care constituie habitate pentru specia *Arnica montana* L. din zona Gârda de Sus, județul Alba;
- observații în câmpul experimental din zona Corbeni, județul Argeș;
- descrierea simptomelor caracteristice, frecvente în câmpul experimental;

- determinarea incidenței și intensității atacului și calcularea gradului de atac în câmpul experimental;

- estimări cantitative privind productivitatea pajiștilor cu *Arnica montana* L. comparativ cu productivitatea obținută în câmpul experimental;

- determinări asupra principiilor active, uleiuri grase și uleiuri volatile;

Materialul biologic utilizat în cercetările întreprinse în cadrul tezei de doctorat a fost reprezentat de plante obținute prin germinare septică și aseptică din semințe de *Arnica montana* L. provenite din Germania, de la Grădina Botanică a Universității din Göttingen

Teza de doctorat are un volum de 169 pagini, structurată pe 5 capitole, cuprinzând 19 tabele și 53 figuri, din care 16 tabele și 49 figuri originale.

Capitolul I - "Stadiul actual al cunoașterii privind managementul tehnologiei și valorificarea speciei *Arnica montana* L. " - a fost întocmit pe baza unor documente ample având ca surse bibliografice manuale, cărți de plante medicinale, articole științifice și publicații de specialitate din domeniul plantelor medicinale și cunoașterii speciei *Arnica montana* L., codexuri și informații actuale de pe site-urile de internet, Ministerul Agriculturii și Dezvoltării Rurale, Anuarul Statistic al României 2015 etc. În acest capitol sunt prezentate principalele caracteristici ale speciei *Arnica montana* L., situația culturii pe plan mondial și în România, stadiul actual al cunoașterii pe plan național și internațional a proceselor de multiplicare a speciei, inducerea în cultură a plantei, precum și bolile și dăunătorii depistați în cultură, importanța culturii, date farmacologice și întrebuințare, reglementări legislative în domeniul plantelor medicinale și aromatice.

Capitolul II - "Cadrul natural unde au fost efectuate cercetările" - este prezentat cadrul organizatoric de amplasare a cercetărilor precum și caracterizarea condițiilor de sol și climă a anilor de experimentare.

Capitolul III intitulat "Materialul și metoda de cercetare", cuprinde descrierea și organizarea experiențelor, metodologia de lucru, formulele de calcul, materialul biologic folosit în experimentare și aparatura utilizată pentru determinările efectuate.

Capitolul IV intitulat "Rezultate obținute" cuprinde rezultatele obținute cu privire la inițierea și stabilirea culturilor *in vitro*, evaluarea creșterii plantulelor de *Arnica montana* L. obținute *in vitro*, inițierea și stabilirea culturilor în substrat solid, evaluarea creșterii plantulelor obținute prin semănat, transferul *ex vitro* al plantelor înrădăcinate, evaluarea plantelor în cultură, descrierea și analiza atacului agentului patogen *Phytophthora infestans*, recoltarea și uscarea materiei obținute din cultură, cercetări în flora spontană și principiile active determinate din florile de *Arnica montana* L.

Capitolul V - "Concluzii și recomandări" prezintă concluziile și recomandările rezultate în urma cercetărilor întreprinse, după analiza și prelucrarea datelor, notărilor și observațiilor efectuate în câmpul experimental și în laborator, în anii de experimentare.

Studiile și cercetările cu privire la managementul și valorificarea speciei *Arnica montana* L. au condus la următoarele concluzii:

- O multiplicare eficientă la specia *A. montana* este realizată prin morfogeneza directă cu originea în meristemul apical al plantulelor obținute prin germinarea aseptică a semințelor.

- Mediile de cultură aseptice testate au generat în medie o rată de germinare a semințelor de 47,76 %, obținând un maxim de 82% pe mediul de cultură suplimentat cu 1000 mg/l polivinil pirolidonă și un minim de 18,10% pe mediul de cultură compus din 1mg/l zeatină, 0,1 mg/l acid alfa-naftil acetic și 0,25 mg/l acid giberelic;

- Cel mai bun răspuns privind numărul de regeneranți/ inocul inițial, au fost înregistrați pe varianta suplimentată cu 1000 mg/l polivinil pirolidonă. După primele patru săptămâni de cultură au fost obținuți un număr de 7 regeneranți/ explant ajungând la 17 regeneranți/ explant inițial iar după opt săptămâni, valoarea medie fiind de 14,62 regeneranți/ explant;

- Acclimatizarea *ex vitro* a plantelor bine dezvoltate (de 4-5 cm înălțime și rădăcini de 7-10 cm) a fost realizată pe substrat de pământ cu perlit, la temperatura de 20°C, iluminare 2000 lux și umiditate între 95 și 75%, cu scădere graduală la 75% în a treia săptămână;

- În paralel, au fost semănate pe 3 substraturi solide diferite semințele nesterilizate care au fost tratate timp de două zile cu apă distilată și 5mg/l acid giberelic. Semințele germinate pe substrat solid au generat plantule, care au fost evaluate privind creșterea la 4 și 8 săptămâni;

- Zona în care a fost amplasat câmpul experimental întrunește condiții favorabile pentru creșterea și dezvoltarea *Arnicii montana* L., atât din punct de vedere climatic cât și al caracteristicilor solului;

- În anul 2014 plantele obținute *in vitro* au avut o lungime medie a frunzelor de 7 cm, în anul 2015, lungimea medie a frunzelor a fost de 13,5 cm, iar în cel de-al treilea an în cultură s-a notat o medie a lungimii frunzelor de 17 cm;

- Plantele obținute prin germinare pe substrat solid compus din 50% pământ și 50% nisip, au avut o lungime medie a frunzelor în anul 2014 de 6,5 cm, în anul 2015 și 2016 media fiind de 14,4 cm, respectiv, 17,9 cm;

- Plantele germinate pe substratul compus din 50% pământ și 50% perlit au avut o lungime medie a frunzelor în anul 2014 de 5,7 cm, iar în anul 2015 și 2016 media fiind de 11 cm și respectiv, 15 cm;

- Plantele obținute prin germinarea pe substratul compus din 50% pământ, 25% perlit și 25% turbă au generat o lungime medie a frunzelor în anul 2014 de 4,1 cm, anul 2015 și anul 2016, media fiind de 6,8 cm și, respectiv, 11,4 cm;

- Rata de supraviețuire după primul an în cultură a plantelor a fost notată în anul 2015 cu maxima de 90% obținută la plantele germinate pe substrat solid de pământ cu nisip, minima fiind de 25% la plantele germinate pe substrat solid, amestec de pământ, perlit și turbă;

- În anul 2016 maxima ratei de supraviețuire a fost de 100%. Ca și în anul anterior, răspunsul cel mai bun a fost obținut pe plantele germinate în substrat de pământ cu nisip;

- În anul 2016 au fost obținute primele inflorescențe în cultură, maxima numărului mediu de inflorescențe pe plantă a fost de 21 obținut la plantele obținute *in vitro*, minima fiind de 12 inflorescențe pe plantă, obținută pe plantele germinate în amestec de pământ, perlit și turbă;

- Inflorescențele au fost evaluate privind diametrul capitulelor, maxima fiind de 7,8 cm. obținută la plantele germinate pe substrat de pământ cu nisip;

- În anii de cultură, un procent de 10,83% din plante au prezentat simptome vizibile ale agentului patogen *Phytophthora infestans*;

- În anul 2015 intensitatea atacului ciupercii a avut valori mai mari, comparativ cu frecvența atacului la plantele studiate, maxima intensității atacului al patogenului a fost de 40,83% obținută la plantele germinate în amestec de pământ, perlit și turbă, plantele germinate *in vitro* având intensitatea atacului de 35%. Plantele germinate pe substrat de pământ cu nisip și pământ cu perlit nu au prezentat simptome ale patogenului;

- În anul 2016 maxima intensității atacului agentului patogen a fost de 27,5% la plantele germinate pe substrat de pământ cu perlit, minima fiind de 0,25% prezentă la plantele obținute *in vitro*. Plantele germinate pe substrat de pământ cu nisip și pământ, perlit și turbă nu au prezentat simptome ale patogenului;

- În cei 3 ani de cercetare a fost urmărită dezvoltarea speciei în 4 zone, 2 zone în regiunea sudică (regiunea silicioasă) și 2 zone în regiunea nordică (regiunea calcaroasă), acestea fiind considerate reprezentative pentru dezvoltarea speciei *Arnica montana L.* din regiunea comunei Gârda de Sus, județul Alba;

- Prin metoda TLC (Cromatografia în strat subțire) au fost identificate substanțele active din inflorescențele recoltate, respectiv colectate din flora spontană;

- A fost analizat conținutul de lactone sesquiterpenice, ulei volatil și polifenoli pe trei probe de inflorescențe și anume: proba 1 reprezentată de inflorescențele recoltate din cultură provenite din plantele obținute *in vitro* a avut un conținut de 0,45% lactone sesquiterpenice, 0,23% timol și 0,08% fenoli; proba 2 reprezentată de inflorescențele recoltate din cultură

provenite din semănarea pe substrat solid cu un conținut de 0,86% lactone sesquiterpenice, 0,46% timol și 0,18% fenoli iar proba 3 reprezentată de inflorescențele colectate din flora spontană cu un conținut de 0,93%, 0,5% timol și 0,26% fenoli.

Rezultatele obținute în urma cercetărilor întreprinse au fost valorificate în 2 articole publicate în reviste de specialitate indexate în baze de date internaționale, de categoria B+. Bibliografia tezei de doctorat cuprinde 160 de surse selectate din literatura de specialitate românească și internațională (articole din reviste de specialitate, cărți de specialitate, portaluri de internet, lucrări științifice).

Lucrarea aduce contribuții importante și actuale în managementul speciei *Arnica montana* L., prin date privind multiplicarea și inducerea în cultură a plantei, în contextul condițiilor climatice din perioada anilor experimentali și a materialului biologic cercetat. Cercetările întreprinse în cadrul tezei de doctorat asigură o cercetare amplă a speciei *Arnica montana* L., cu rezultate bune în cultură, determinarea principiilor active din inflorescențe, studii în flora spontană, determinări privind biologia patogenilor, comportarea speciei în condițiile zonelor studiate, rezultate ce aduc date noi și interesante în completarea rezultatelor din cercetarea fundamentală de specialitate.

Cuvinte cheie: *Arnica montana* L., multiplicare, cultură, principii active