

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„CAROL DAVILA” DIN BUCUREȘTI  
ȘCOALA DOCTORALĂ  
DOMENIUL FARMACIE**



***UTILIZAREA TEHNICILOR HIDROPONICE  
PENTRU CULTIVAREA UNOR PLANTE CU  
POTENȚIAL MEDICINAL ȘI DE FITOREMEDIERE A  
SOLURILOR***  
**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:**

**PROF. UNIV. DR. DINU MIHAELA**

**Student-doctorand:**

**POPOVICI PATRICIU CONSTANTIN**

**ANUL 2024**

## Cuprinsul tezei de doctorat

Lista cu lucrările științifice publicate	ii
Lista cu abrevieri și simboluri	iii
Introducere	v
I. Partea generală	1
Capitolul 1. Noțiuni generale referitoare la tehnicile hidroponice	1
1.1. Hidroponia, definiție	1
1.2. Istoric	1
1.3. Tipuri de cultivare în mediu hidroponic (sisteme hidroponice)	3
1.3.1. Tehnica flux-reflux	3
1.3.2. Irigarea prin picurare	4
1.3.3. Tehnica filmului nutritiv	4
1.3.4. Tehnica fluxului adânc	5
1.3.5. Aeroponia	6
1.4. Parametri care influențează creșterea plantelor în sisteme hidroponice	6
1.5. Avantajele și dezavantajele hidroponiei	10
1.6. Comparație între sistemele hidroponice și geonice de cultivare	11
Capitolul 2. Date privind speciile vegetale selectate și incluse în studiul hidroponic/geonic	13
2.1. <i>Nephrolepis exaltata</i> (L.) Schott. (NE)	13
2.2. <i>Taraxacum officinale</i> (L.) Weber ex F.H. Wigg. (TO)	15
2.3. <i>Iris germanica</i> L. (IG)	19
II. Cercetări personale	22
Capitolul 3. Ipoteza de lucru și obiectivele generale	22
Capitolul 4. Stabilirea identității speciilor studiate	25
Capitolul 5. Cultivarea comparativă geonică și hidroponică a speciilor de interes	37
Capitolul 6. Testele cu factori de creștere în mediu hidroponic	49
Capitolul 7. Teste de fitoremediere în mediu hidroponic	62
Capitolul 8. Teste de fitotoxicitate și de letalitate asupra naupliilor de <i>Artemia franciscana</i> Kellog	76
Capitolul 9. Teste de determinare a capacității antioxidante totale, a polifenolilor și a flavonoidelor	90
Capitolul 10. Studii farmacologice	98
10.1. Testarea toxicității acute <i>Nephrolepis exaltata</i> (L.) Schott, <i>Iris germanica</i> L. și <i>Taraxacum officinale</i> (L.) Webb	98
10.2. Screening farmacologic la nivelul Sistemului Nervos Central pentru decelarea efectelor produse de principiile active conținute în extractele de <i>Nephrolepis exaltata</i> (L.) Schott.	100
Capitolul 11. Evaluarea potențialului de inhibare a HMG-CoA reductazei al speciilor studiate, utilizând metoda QSAR	109
Concluzii și contribuții personale	115
Referințe bibliografice	120
Anexe	138

## Introducere

Tehnicile de cultivare hidroponică a plantelor sunt cunoscute în forma modernă de mai bine de un secol și, deși cele mai multe aplicații și cercetări au fost orientate spre plante de uz alimentar sau industrial, de cel puțin câteva decenii există un interes tot mai accentuat pentru utilizarea acestor tehnici neconvenționale de cultură și în domeniul plantelor medicinale [1–3]. În acest context, am fost interesat de explorarea acestei modalități de cultură în obținerea de produse vegetale de la trei specii de plante medicinale, din grupe taxonomice foarte diverse: o ferigă (*Nephrolepis exaltata* (L.) Schott., în continuare, abreviată NE), o dicotiledonată (*Taraxacum officinale* (L.) Weber ex F.H. Wigg, TO) și o monocotiledonată (*Iris germanica* (L.), IG).

NE, este dintre cele trei, specia cea mai puțin studiată: nu se cunoaște decât foarte superficial compoziția fitochimică, iar potențialul său terapeutic a rămas aproape neatins de cercetările în domeniul farmacologic. S-au realizat însă unele studii de cultivare hidroponică [4–6], astfel încât exista un teren de pe care să pornim studiile noastre. Spre deosebire de NE, atât TO, cât și IG au fost amplu investigate, cercetătorul actual beneficiind de multe date de natură fitochimică sau de farmacologie experimentală, sintetizate și în câteva evaluări de sinteză de tip *review* [7–12]. Nu s-a studiat până acum nici impactul mediului hidroponic asupra vitezei de creștere și a productivității acestor specii de plante medicinale, și nici efectul unor factori de creștere precum acidul giberelic, substanțele humice, acidul salicilic sau acetilsalicilic în concentrațiile testate asupra acestora, atunci când sunt cultivate în sisteme hidroponice. Cultura hidroponică oferă posibilități unice de investigare a potențialului de fitoremediere a unor metale grele precum vanadiul, stronțitul sau bariul, și am dorit să exploatez și aceste posibilități în cadrul studiilor doctorale. Ca și în cazul fitochimiei, nu există niciun fel de date în literatura științifică referitoare la toxicitatea NE, nici la potențialele sale efecte farmacologice. De aceea, în cadrul cercetărilor doctorale ne-am propus și realizarea unor teste de toxicitate pe monocotiledonate, dicotiledonate și nevertebrate asupra unor extracte polare și apolare obținute din cele 3 specii. Am realizat acest lucru, într-o abordare comparativă, pentru extracte preparate din specimene cultivate în mediu hidroponic și, respectiv geoponic. În mod similar, am realizat comparații ale unor asemenea extracte în privința capacității lor antioxidante, a concentrației totale de polifenoli și flavonoide. Am făcut pași și în privința explorării potențialului farmacologic al celor trei specii, în particular prin realizare, în colaborare cu colegii de la disciplina de farmacologie din facultate, a unui screening al activității unor extracte din NE asupra sistemului nervos central, precum și prin

utilizarea tehnicii QSAR pentru identificarea compușilor chimici din IG, potențial responsabili de efectul hipocolesterolemiant al unui extract obținut din această ultimă specie. Pentru specia NE sunt necesare studii suplimentare pentru a determina compoziția chimică și pentru evaluarea în profunzime a potențialul terapeutic, în special a celui fitoestrogenic.

## **Capitolul 1. Noțiuni generale referitoare la tehnicile hidroponice**

Partea generală conține generalități cu privire la definiția, istoria hidroponiei, sistemele hidroponice în uz, parametri care influențează creșterea plantelor în sisteme hidroponice, avantajele, dezavantajele hidroponiei și comparația între sistemele hidroponice și geonice de cultivare.

## **Capitolul 2. Date privind speciile vegetale selectate și incluse în studiul hidroponic/geonic**

Al doilea capitol al părții generale sintetizează datele științifice cunoscute despre cele 3 specii vegetale alese: *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott., *Taraxacum officinale* (L.) Weber ex F.H. Wigg, *Iris germanica* (L.).

## **Capitolul 3. Ipoteza de lucru și obiectivele generale**

Nu au fost explorate până acum potențialele diferențe fitochimice, anatomice sau toxicologice privitor la speciile selectate de noi, cultivate în mediul geonic față de cel hidroponic. Ipoteza noastră este că asemenea diferențe sunt minimale, dar la inițierea cercetărilor doctorale dovezile experimentale în acest sens lipseau. De aceea, ne-am propus investigarea comparativă a caracterelor morfologice (prin evaluări macroscopice și microscopice) și fitochimice a celor trei specii, cultivate în medii geonice și hidroponice.

Există de asemenea, goluri epistemice în literatura științifică referitoare la impactul cultivării în mediu hidroponic asupra îmbunătățirii vitezei creșterii și calității a recoltei acestor plante precum și în privința efectului pe care anumiți factori de creștere precum acidul gibberelic, substanțele humice, acidul salicilic sau acetilsalicilic în concentrațiile testate îl au asupra cultivării hidroponice menționate. Ne-am propus, de aceea, investigarea acestor aspecte printr-o serie de experimente proiectate.

Aceste trei specii nu au fost studiate până în prezent din perspectiva potențialei lor utilități în a fitoremedia metale toxice precum vanadiul, stronțitul sau bariul, nici nu s-a studiat efectul acestor metale grele asupra cultivării acestor trei specii vegetale. În plus,

mediul hidroponic oferă posibilități superioare de a investiga această problematică, prin eliminarea efectului de confundare (*confounding* statistic) pe care îl prezintă în cultivarea convențională solul și proprietățile sale, inclusiv microbiomul solului [13], un rol important avându-l și evitarea problemelor de biodisponibilitate care intervin în cazul experimentelor realizate în sistem geoponic [14].

Datele experimentale referitoare la toxicitatea speciilor incluse în studiu sunt în general sărace, iar pentru NE nu există niciun fel de date, în acest sens. În acest context, am fost interesați de realizarea unor teste de fitotoxicitate și de evaluare a toxicității pe nevertebrate (nauplii de *Artemia franciscana* Kellog) a unor extracte polare și apolare obținute din acestea. Aceste evaluări s-au făcut comparativ, pentru a putea detecta (indirect, prin intermediul toxicității) eventuale diferențe între proprietățile de conținut fitochimic ale specimenelor cultivate în mediu hidroponic și geoponic. În mod asemănător, ne-am propus evaluarea comparativă a capacității antioxidante, a concentrației totale a polifenolilor și a flavonoidelor dintr-o serie de extracte obținute din specimene cultivate în cele două medii.

Având în vedere datele foarte sărace referitoare la farmacologia speciei NE, ne-am propus (în colaborare cu disciplina de Farmacologie din facultate) și realizarea unui screening al activității asupra sistemului nervos central al extractelor provenite de la această specie vegetală. Am fost interesați, de asemenea, să investigăm dacă compușii biosintetizați de IG au capacitatea de a inhiba HMG-CoA-reductaza, utilizând o serie de modele QSAR pe bază de regresie pentru inhibitorii acestei enzime.

## Capitolul 4. Stabilirea identității speciilor studiate

### Introducere

Ca primă etapă în cadrul cercetărilor doctorale ne-am preocupat de identificarea speciilor studiate. În plus, pentru cele trei specii examinate, ne-am propus să evaluăm impactul pe care l-a avut cultivarea hidroponică asupra morfologiei și anatomiei organelor lor vegetative. Pentru *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott **nu am întâlnit, în literatura de specialitate consultată, date privind modificări histo-anatomice** ale organelor vegetative subterane sau/și supratereștre în urma cultivării hidroponice. Am presupus că nu vor exista diferențe semnificative, dar am dorit să evaluăm aceste aspecte pe cale experimentală.

### Materiale și metode

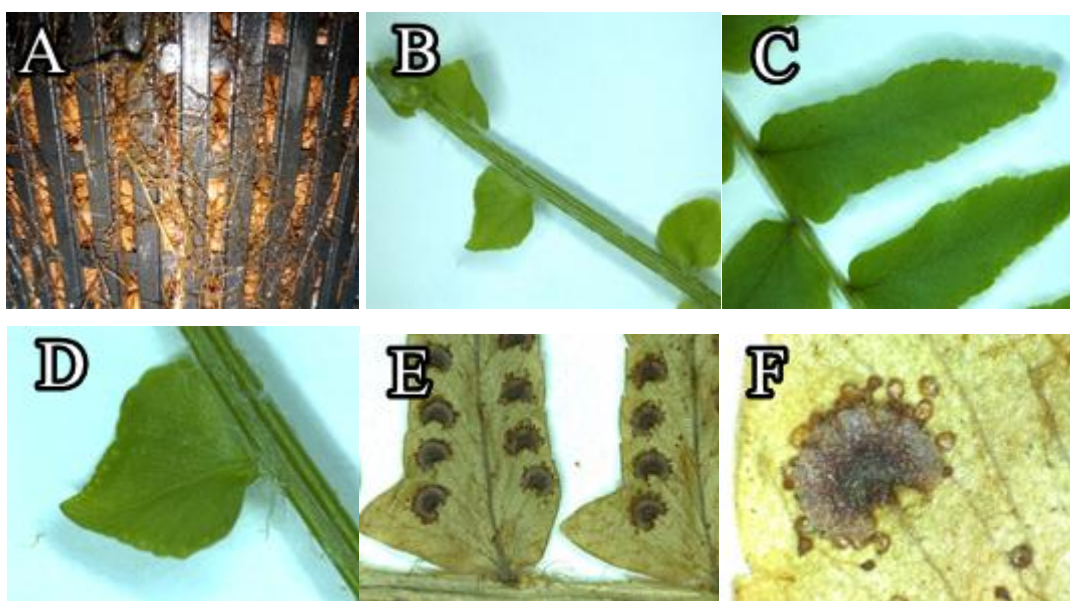
Atât pentru activitățile raportate în acest capitol, cât și pentru cele din capitolele următoare, speciile de ferigi au fost obținute din comerț (Dedeman, importate din

Olanda), în ghiveci, având la momentul achiziției aproximativ 30 cm înălțime și 12 cm diametru. Pădăria a fost cultivată ori direct din semințe culese din județul Dâmbovița, ori din rizomi (cu rădăcini) culeși din spațiul verde din București și Ilfov. Rizomii de *Iris germanica* L. au fost obținuți prin amabilitatea personalului Grădinii Botanice "Dimitrie Brândză" din București.

Identitățile speciilor studiate au fost confirmate prin examinări macroscopice și microscopice ale rădăcinilor, rizomilor, frunzelor, rahisului, pinulelor și stolonilor, utilizând microscopia optică și microscopia fluorescentă și prin comparație cu literatura de referință (*Flora of North America* [15] și World Flora Online [16]). Am examinat preparatele superficiale ale pinulelor (NE) și frunzelor (TO, IG), clarificate cu NaOH 5% și secțiuni transversale obținute manual din rizomi, rahis (NE), pinule (NE), frunze și stoloni (NE) clarificate cu hipoclorit de potasiu (apă de Javel) și colorate cu dubla colorație: verde de iod și carmin alaun, cu fabil (NE) [17] sau cu calcofluor alb [18].

### Rezultate și discuții

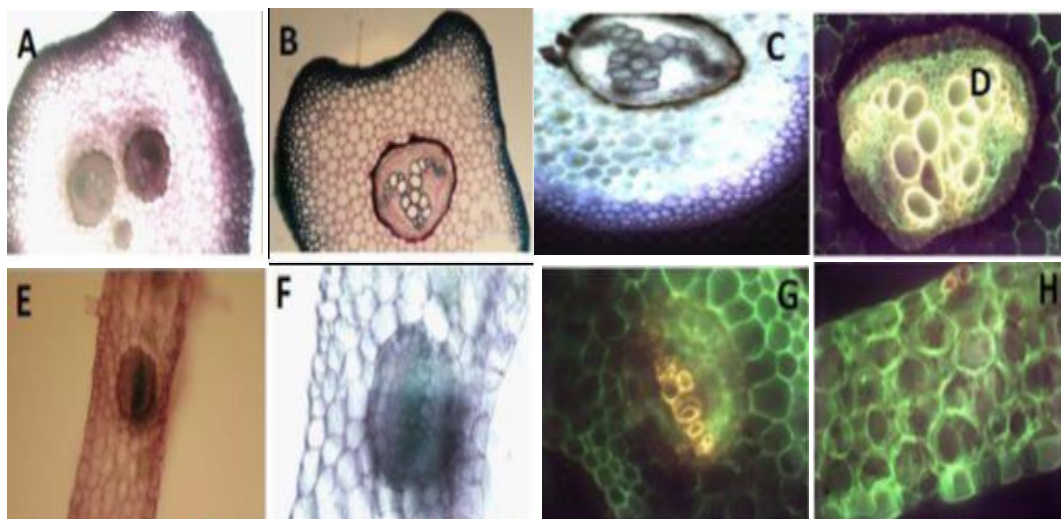
#### Examenul macroscopic al speciei *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott



**Fig. 4.1. Fotografii ale organelor NE cultivată hidroponic și geponic (B-F microscop digital):**

A - rizomi cu rădăcini fine; B - frondă tânără în formă de cârjă; C - frondă, marginea serată-crenată a pinulei și lobul tipic, auriculat; D - frondă tânără și perii tectori de pe rahis; E - partea inferioară a frondelor mature, cu sori induzați și sporangi, specimen geponic; F - sor cu induzia reniformă și sporangi pedicelați (microscop digital), specimen geponic.

#### Examen microscopic al speciei *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott (NE)



**Fig. 4.2. Secțiuni transversale prin rizom, rahis și pinulă de NE:**

A - Rizom - structură polistelică, hipodermă pluristratificată și lignificată, fascicul vascular hadrocentric (meristel) (ob. 4x, dubla colorație); B - Rahis - epidermă și hipodermă pluristratificată, lignificată, păr tector pluricelular uniseriat, fascicule vasculare hadrocentrice (ob. 4x, dubla colorație); C - Rahis - epidermă și hipodermă lignificată, pluristratificată, fascicul vascular hadrocentric (ob. 4x, fabil); D - Rahis - fascicul vascular hadrocentric, endoderma cu benzi Caspary (ob. 10x, calcofluor); E - Pinulă - structură omogenă, celulă tricomică bazală, fascicul vascular hadrocentric, endodermă cu benzi Caspary (ob. 4x, dubla colorație); F și G - Pinulă - fascicul vascular hadrocentric, endodermă cu benzi Caspary (ob. 10x, fabil F și calcofluor G); H - Pinulă - epidermă cu cuticulă, stomate, cameră substomatică, structură omogenă (ob. 10x, calcofluor).

Identitatea speciei NE a fost confirmată prin observații macroscopice ce se află în concordanță cu datele din literatura de specialitate: pinulele sesile de un verde palid sunt deltoide cu bazele inegale, partea anterioară auriculată, marginile ușor serate, induzia reniformă, sporii elipsoidali sau sferici cu suprafața neuniformă [19–21].

Și pentru celealte două specii, observațiile macroscopice și microscopice au fost în concordanță cu cele din literatură.

Examinările macroscopice și microscopice comparative (folosind o varietate de tehnici de microscopie și coloranți) nu au evidențiat diferențe semnificative între exemplarele cultivate în mediul hidroponic față de cel geponic.

## **Capitolul 5. Cultivarea comparativă geponică și hidroponică a speciilor de interes**

## Introducere

În literatura științifică s-au publicat unele studii care au comparat eficacitatea proceselor de cultură convenționale (geoponice) cu cele hidroponice, cu precădere pentru specii vegetale de interes alimentar (ex. *Spinacea oleracea* L. [22], *Telfairia occidentalis* Hook.f. [23]). Deoarece nu s-au realizat studii asupra impactului cultivării speciilor NE, TO, IG în mediul hidroponic comparativ cu cel geponic, ne-am propus realizarea acestui studiu pentru a determina dacă există sau nu diferențe ale celor două medii de cultivare asupra plantelor cultivate, dacă aceste specii cresc mai rapid și mai mari în mediul hidroponic în comparație cu cel geponic.

## Materiale și metode

Pentru experimentul cultivării comparative hidroponice – geoponice, 2 loturi a câte 12 plante au fost cultivate în 2 vase de 25L, în mediu hidroponic și geponic, în condiții controlate de temperatură, umiditate și lumină într-un cort de cultură de interior, model HL 100 V2.0 (HOMEbox, Berlin, Germania). Plantele au fost ținute sub lumină artificială timp de 10 ore pe zi, sub o lampă fluorescentă compactă de 250 W cu spectru dublu; radiația fotosintetică activă, RFA, a fost de 104,91  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$  (d.s. 29,65) pentru mediul hidroponic și 109,25  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$  (d.s. 16,35) pentru cel geponic. Mediul hidroponic de cultură prin submersie a folosit argilă expandată, 12 ghivece de plasă de 5 cm, apă dură aerată (3,3 litri de aer pe minut) și îngrășământ lichid adecvat pentru creșterea vegetativă. Valorile medii ale pH-ului, ale solidelor totale dizolvate și ale temperaturilor soluției minerale din mediul hidroponic de cultură prin submersie au fost măsurate.

Pentru mediul geponic, s-a folosit un amestec egal de trei substraturi comerciale: substrat de grădină, substrat pentru orhidee și sol universal pentru plante cu flori (Agro CS, Klasman-Deilman GmbH). Apa utilizată, tabelul 5.I., a provenit de la robinet și a avut 7 grade germane de duritate corespunzătoare la 70 mg/L CaO sau 124,936 ppm.

După 30 de zile s-au măsurat o serie de variabile de interes care să permită evaluarea diferențelor în statusul de dezvoltare al celor două eșantioane cultivate în medii diferite: conductanța stomatică, numărul de frunze, lungimea, suprafața foliară și masa uscată a plantelor. Conductanța stomatică a fost măsurată cu ajutorul porometrului foliar pe bază de difuzie la stare staționară (*steady state*), model SC-1 (Decagon Devices), pe mai multe frunze de la fiecare specimen (depinzând de numărul de frunze al acestuia). Lungimea foliară a fost estimată cu ajutorul unei role de măsurare, iar suprafața foliară a fost estimată cu ajutorul programului software ImageJ v. 1.53 [24], în urma fotografierei.



Toate analizele statistice au fost realizate în mediul de calcul și programare R, versiunea 4.4.1 [25].

### **Rezultate și discuții**

Datele experimentale indică faptul că diferențele dintre parametri analizați pentru exemplarele cultivate în mediu hidroponic și geoponic nu diferă semnificativ, iar eventualele diferențe care nu au putut fi detectate din cauza puterii statistice insuficiente sunt în general mici, astfel încât este puțin probabil ca orice diferențe nedetectate să fie relevante din punct de vedere practic, cel puțin pentru variabilele de interes analizate. Acestea fac din **cultivarea hidroponică a NE, TO și IG o alternativă viabilă și rezonabilă la cultivarea tradițională, geoponică**. Nu am obținut însă în experimentele noastre dovezi ale unei superiorități clare ale uneia din metodele de cultivare asupra celeilalte (dar este posibil ca prin optimizări ulterioare să se evidențieze o asemenea superioritate, literatura indicând adesea superioritatea metodei hidroponice [22], [23]).

## **Capitolul 6. Testele cu factori de creștere în mediu hidroponic**

### **Introducere**

Având în vedere posibilitatea deosebit de simplă pe care o oferă sistemele de cultivare hidroponică de aplicare a unor factori de creștere în mediul de cultivare, fără provocările pe care le prezintă administrarea în sol, am fost interesați să evaluăm în ce măsură administrarea acidului giberelic (GA3), a acidului salicilic (AS), a acidului acetilsalicilic (AAS) și a substanțelor humice (SH) în apa de cultură permite influențarea dezvoltării plantelor cultivate.

### **Materiale și metode**

Pentru experimentele cultivării hidroponice cu factori de creștere (și pentru cele de fitoremediere) s-au folosit 2 corturi de cultivare HL 100 V2.0 cu 2 vase de cultivare în fiecare. Plantele au avut un ciclu de lumină de 12 ore zi/noapte și au fost cultivate sub o lampă MH de 250 W *growth spectre* (GIB lighting, Germania). Măsurătorile au fost efectuate cu ajutorul unui aparat de măsurare a substanțelor solide totale dizolvate (TDS) ADWA AD31 (ADWA, Ungaria) și a unui pH-metru Testo 206-pH1 (Testo, Germania).

Sistemul de cultură hidroponic prin submersie utilizat a fost unul propriu, fiecare rezervor fiind realizat din cutii PVC opace de 25L, șase ghivece din plasă de 12 cm, argilă expandată și fiecare vas a fost umplut cu o soluție de 15L realizată cu apă dură și 30 – 40 ml de îngrășământ lichid concentrat pentru ciclul de creștere vegetativă a plantelor verzi (SC

Amia International). Apa a fost aerată în mod constant cu ajutorul unei pompe de aer Hailea ACO 9602, care avea un debit de 7,2L de aer pe minut. Tubulatura a avut un diametru de 4 mm, iar pietrele de aer de 150 mm au fost din ceramică. pH-ul a fost reglat la valori între 5,5 și 6,5 cu acid citric și 20 ml apă oxigenată a fost adăugată pentru efectul dezinfectant și de oxigenare al rădăcinilor submersate.

Radiația fotosintetică activă (RPA) a fost măsurată cu un senzor cuantic cu spectru complet MQ-500 (Apogee Instruments, terra-preta.ro). Aceasta a fost  $47.33 \mu\text{mol} / \text{m}^2\text{s} \pm 11.16$  pentru vasul 1;  $56.50 \mu\text{mol} / \text{m}^2\text{s} \pm 11.74$  pentru vasul 2;  $56.83 \mu\text{mol} / \text{m}^2\text{s} \pm 4.91$  pentru vasul 3 și  $52.33 \mu\text{mol} / \text{m}^2\text{s} \pm 5.35$  pentru vasul 4.

**Acidul giberelic** (GA3) utilizat în cadrul experimentului a fost obținut dintr-o sursă comercială (GibbA3 T, tablete 20% x 5g, S.C. RomSoft SRL). A fost utilizat la o concentrație de 0,02, 0,1 și 0,5 ppm pentru primele trei vase de cultură. Factorul de creștere **acid salicilic** (SA; Fagron) a fost utilizat în primele trei vase la următoarele concentrații: 10  $\mu\text{M}$ , 100  $\mu\text{M}$  și 150  $\mu\text{M}$ . Factorul de creștere **acid acetilsalicilic** (AAS, sintetizat în facultate) a fost utilizat în primele trei vase la o concentrație de 50  $\mu\text{M}$  pentru primul vas, 100  $\mu\text{M}$  pentru al doilea și 10  $\mu\text{M}$  pentru al treilea. **Substanțele humice** (SH) utilizate în experiment au fost obținute dintr-un produs comercial numit Diamond black (General Organics), care conținea acid humic derivat din lignină. Acesta a fost folosit la o concentrație de 240 ppm de acizi humici pentru primul vas, 360 ppm pentru al doilea și 40 ppm pentru al treilea.

Plantele au fost menținute în contact cu factorii de creștere timp de două săptămâni, iar soluția a fost schimbată săptămânal pentru a preveni degradarea hormonului de creștere. S-au urmărit aceleași criterii de evaluare finală ca și în capitolul precedent.

### **Rezultate și discuții**

**Niciunul din fitohormonii menționați nu au fost evaluați până acum în sisteme hidroponice ale celor trei specii evaluate de noi.**

În experimentele noastre nu am observat niciun fel de efect semnificativ al **GA3** (asupra niciuneia dintre cele trei specii) și presupunem că acest fenomen este consecința concentrațiilor prea reduse utilizate de noi (maximum 0,5 mg/L).

**Nu am observat efecte semnificative asupra frunzelor, conductanței stomatelor sau masei foliare, a organelor subterane ori a masei totale uscate, pentru speciile evaluate. La nivelurile de concentrație mai mari testate de noi (100 și 150  $\mu\text{M}$  AS), s-au observat tendințe către efecte inhibitoare în privința numărului de frunze, al suprafeței foliare și un efect inhibitor semnificativ asupra conductanței stomatelor.**

Deoarece eşantioanele noastre au fost limitate la şase plante per grup, nu este imposibilă o eroare de tip I, dar se justifică repetarea experimentului (şi utilizarea unor concentraţii mai mari) pentru a evalua dacă este vorba de un efect specific sau de o observaţie cu caracter aleator.

Nici în privinţa acidului acetilsalicilic nu s-au observat efecte semnificative asupra dezvoltării celor trei specii evaluate.

La concentraţiile utilizate în studii experimentale (40 mg/L), substanţele humice nu au avut efecte benefice semnificative asupra dezvoltării celor trei specii în sistem hidroponic. Date experimentale limitate au sugerat că niveluri mai ridicate ale acestora ar putea fi benefice (în acord cu recomandarea producătorului), dar acest lucru necesită confirmare experimentală.

## **Capitolul 7. Teste de fitoremediere în mediu hidroponic**

### **Introducere**

Curăţarea solurilor sau a apelor contaminate cu metale toxice se poate face economic prin fitoremediere. Aceasta presupune folosirea plantelor pentru a extrage şi acumula metalele contaminante din sol sau din ape.

Nici NE, nici TO sau IG nu au fost testate pentru evaluarea potenţialului de fitoremediere a metalelor toxice vanadiu, stronţiu şi bariu. De asemenea, nu se cunoaşte efectul toxic al acestora metale asupra celor trei specii vegetale, atunci când sunt cultivate în mediu hidroponic. În plus, mediul hidroponic oferă posibilităţi mai bune de evaluare a acestor aspecte, deoarece elimină efectul de confundare pe care îl prezintă în cultivarea geoponică solul cu caracteristicile lui şi microbiomul acestuia [13]. Mediul hidroponic permite şi evitarea problemelor de transfer de masă (biodisponibilitate) care caracterizează experimentele realizate în sistem geoponic [14].

### **Materiale şi metode**

Metoda de cultură a fost identică cu cea folosită pentru factorii de creştere. S-a utilizat metavanadat de amoniu (meta puriss., Schering) în următoarele concentraţii: 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm şi niciunul pentru control. Nitratul de stronţiu (Schering) a fost utilizat în concentraţii de: 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, iar peroxidul de bariu (Schering) a fost utilizat în concentraţii de: 10 ppm, 65 ppm, 170 ppm.

Materia vegetală a fost adusă la o greutate constantă cu ajutorul unei etuve şi a fost măsurată pe balanţa analitică (Partner PS 600/C/2). Analizele au fost realizate prin tehnica

spectrometriei de masă cu plasmă inductivă (ICP-MS) pentru IG și NE, simultan pentru V și Sr. Pentru restul analizelor s-a folosit spectrometria de absorbție atomică (SAA). Datele referitoare la acumularea Ba în organele vegetative ale TO sunt indisponibile ca urmare a unei erori de analiză a aparatului și a caracterului distructiv al tehnicii care a dus la distrugerea eșantioanelor de analizat.

### **Rezultate și discuții**

Toate cele trei specii evaluate tolerează foarte bine ionii de V, Sr și Ba, fără a manifesta semne de ofilire sau alte semne de toxicitate. Toate cele trei specii acumulează ionii de V, Sr și Ba, dar nu toate și nu pentru toate metalele evaluate, îndeplinesc criteriile pentru a fi calificate ca hiperacumulatori.

**NE** rezistă neafectată la niveluri ridicate de vanadiu, acumulează cantități relativ mari în organele subterane, dar acumularea în frunze este mult mai redusă decât în acestea. **NE a concentrat mai mult Sr în părțile aeriene decât în cele subterane și în cantități foarte mari, indicând că este hiperacumulator și foarte recomandată pentru fitoremediere, mai ales datorită faptului că nu s-a ofilit la niciuna din concentrațiile testate.**

**TO** acumulează V în cantități mari în rizom, prezintă însă dezavantajul că acumulează puțin V în frunze. A concentrat și Sr mai mult în părțile subterane decât în cele supraterane, dar acumularea Sr s-a făcut în cantități mici, mult mai mici decât celelalte specii testate.

**IG** prezintă o toleranță bună atunci când este cultivat în prezența vanadiului, dar a acumulat metalul în cantități mari doar în interiorul rădăcinilor și nu în rizomi sau frunze, fiind rezistent la V, dar nu indicat pentru fitoremedierea acestuia.

**IG a acumulat cantități mari de stronțiu în frunze, superioare unor hiperacumulatori menționați în literatură, fiind o specie potențial utilă în fitoremedierea acestui metal.**

Deși toate speciile evaluate au acumulat cantități modeste de bariu, niciuna dintre ele nu corespunde unui hiperacumulator [26].

## **Capitolul 8. Teste de fitotoxicitate și de letalitate asupra naupliilor de *Artemia franciscana* Kellog**

### **Introducere**

Toxicitatea acută a unor substanțe ori amestecuri de substanțe (inclusiv extracte vegetale sau alte produse de origine naturală) poate fi testată pe o varietate de organisme, de la procariote la mamifere. Dintre metodele ieftine de testare, utile în special pentru evaluări

preliminare, se poate menționa testarea pe specii vegetale, monocotiledonate precum *Triticum aestivum* L. [27], sau dicotiledonate, ex. *Lactuca sativa* L. [28] și testarea pe nevertebrate, de ex. *Artemia franciscana* Kellog. [29].

În contextul investigării celor trei specii vegetale cultivate în mediu hidroponic, am fost interesați de testarea toxicității acestora, pentru a evalua, în ce măsură această modalitate de cultivare influențează profilul fitochimic și, prin urmare, toxicitatea speciilor respective (este de presupus că diferențele sunt minimale). În plus, toxicitatea speciei NE nu a fost evaluată anterior, astfel încât pentru aceasta, evaluarea toxicității prezintă un interes suplimentar.

### **Materiale și metode**

Pentru toate cele trei specii s-au utilizat extracte apoase și alcoolice obținute la cald din: frunze, rizomi, rădăcini de la plantele cultivate geponic și, respectiv hidroponic. Fiecare material vegetal a fost uscat, măcinat fin (sita ochiurilor de 500 μm) și s-au obținut câte două extracte de concentrație 5%: unul cu metanol absolut și unul cu apă distilată. Pentru frondele NE cultivată hidroponic s-a utilizat etanol în loc de metanol, extractele fiind evaluate pentru fitotoxicitate la următoarele concentrații 10%, 5%, 1%, 0,5%, 0,1%. Pentru toate celelalte produse vegetale s-a utilizat metanol ca alcool și următoarele niveluri de concentrație în evaluarea fitotoxicității: 5%, 1%, 0,5%, 0,25% și 0,125% (concentrația de 10% având efecte inhibitorii totale asupra plantelor). Testul *Lactuca* a fost realizat doar pentru IG deoarece au fost întâmpinate dificultăți cu germinarea semințelor.

Pentru testul de letalitate s-a utilizat micro-crustaceul *Artemia franciscana* Kellog, AF (Ocean Star International) [30]. Concentrațiile utilizate au fost de 0,50%, 0,25%, 0,125%, 0,0625% și 0,03125% atât pentru extractele apoase, cât și pentru cele metanolice. Protocolul a fost similar cu testul de letalitate al creveților de apă sărată *Artemia salina* Brine Shrimp Lethality Assay [31].

Grâul ecologic a fost procurat local, din județul Călărași, iar *L. sativa* din comerț (s.c. Agrosem Impex s.r.l.). S-a evaluat influența soluțiilor extractive asupra alungirii radicelelor semințelor germinate, atât pentru grâu (Testul *Triticum*), cât și pentru salată (biotestul *Lactuca*), precum și impactul pe care l-a avut asupra filmului mitotic din vârful rădăcinilor de grâu, prin metoda Constantinescu [32,33]. Pentru biotestul *Lactuca*, protocolul a fost identic cu cel al testului *Triticum*, cu excepția faptului că au fost alese doar semințele de salată cu o rădăcină de 1 mm lungime și nu s-au efectuat colorarea cu orceină acetică și observații microscopice [34].

## Rezultate și discuții

Efectul inhibitor scăzut al frunzelor NE cultivate în mediu hidroponic, observat în testul *Triticum*, precum și letalitatea scăzută observată în biotestul *Artemia*, sugerează că planta poate fi utilizată în siguranță în scopuri terapeutice. Există puține cunoștințe etnofarmacologice privind utilizarea acestei specii. Cu toate acestea, datele din Fiji și India arată că este utilizată în mod tradițional (rizomul) pentru tratarea tulburărilor menstruale, a sterilității femeilor și facilitant al nașterii [35,36]. Datele obținute *in vitro* pe liniile celulare de cancer de prostată LNCaP și PC-3 au indicat că fracțiunile din frunze ar putea avea potențiale efecte antiandrogenice [37]. Astfel de date din medicina populară, împreună cu toxicitatea aparent scăzută observată în experimentele noastre, indică faptul că sunt interesante și ar trebui efectuate investigații suplimentare privind atât compoziția chimică, cât și proprietățile farmacologice ale extractelor preparate din rizomi și frunze.

În mod curios, datele noastre experimentale au indicat faptul că un extract apos din organele subterane provenit de la specimene din cultură geonică prezintă o fitotoxicitate mai mare față de *Triticum aestivum* în comparație cu extractul apos din frunze (dar în unele zile, relația a fost inversată între cele două). În schimb, în cazul extractelor obținute din specimene cultivate în mediu hidroponic, lucrurile au stat invers: extractul apos din frunză a fost mai fitotoxic decât cel din organe subterane. În cazul extractelor metanolice, indiferent de mediul de cultură (hidroponic sau geonic), cele obținute din frunză au fost mai active decât cele obținute din organele subterane. Datele de toxicitate asupra naupliilor de *Artemia franciscana* Kellog au indicat o toxicitate ceva mai mare a extractelor obținute din organele subterane (față de cele frunze), indiferent de solventul utilizat. Ambele teste (*Triticum* și *Artemia*) au indicat însă niveluri relativ reduse de toxicitate. La șobolan, pentru un extract hidro-etanolic din organele subterane ale TO s-a estimat o  $DL_{50}$  de 1100 mg/kg, acesta fiind clasat de autorii studiului drept un amestec cu toxicitate acută relativ redusă [38]– o concluzie în acord și cu cele obținute de noi în testele *Triticum* și *Artemia*. Alte studii au estimat pentru alte extracte valori  $DL_{50}$  în teste de toxicitate acută mult mai mari, de 36,8 și 28,8 g/kg [39], ceea ce indică o toxicitate acută și mai redusă.

Toate evaluările toxicității realizate de noi au indicat că extractele obținute din IG, atât din frunze, cât și din organele subterane, au o toxicitate acută foarte limitată sau sunt lipsite de toxicitate. A existat o bună concordanță între testele *Artemia* și testele de fitotoxicitate aplicate în cadrul nostru experimental (pe speciile *Lactuca* și *Triticum*). A existat o diferență mică între extractele obținute din specimene cultivate în mediu geonic

și hidroponic. Toxicitatea a fost ceva mai mare pentru extractele obținute cu alcool față de cele obținute cu apă, dar în ambele situații a fost foarte redusă.

## **Capitolul 9. Teste de determinare a capacității antioxidante totale, a polifenolilor și a flavonoidelor**

### **Introducere**

Capacitatea antioxidantă totală, CAT măsoară eficiența fitoextractelor de a fi scavengeri de radicali liberi și de a opri efectele nedorite ale SRO asupra macromoleculilor biologice. CAT este derivată din totalitatea polifenolilor (P) și a flavonoidelor (F) [40].

În contextul programului de cercetare doctorală ne-am propus testarea ipotezei conform căreia plantele crescute în mediu hidroponic prezintă o fitochimie/ o compoziție chimică similară, dacă nu mai variată și mai bogată în componente fitochimice decât cele cultivate convențional. În acest sens, am studiat comparativ CAT, P și F din extractele hidro-alcoolice uscate prin liofilizare preparate din organele plantelor cultivate hidroponic și geoponic.

### **Materiale și metode**

Materialul vegetal uscat al celor 3 specii a fost separat în patru loturi: frunzele și organele subterane ale plantelor cultivate în mediul hidroponic și, respectiv, frunzele și organele subterane ale plantelor cultivate în mediul geoponic. Acestea au fost măcinate fin și cântărite, apoi tratate cu 50% metanol. Fiecare soluție extractivă finală a fost distilată la rotavapor până la distilarea completă a metanolului. Soluția apoasă rămasă a fost congelată și liofilizată folosind un liofilizator marca Scanvac Coolsafe 55-4. Extractele au fost păstrate la (-) 20 °C până la utilizare.

Determinarea conținutului total de polifenoli a probelor s-a realizat cu reactivul Folin-Ciocalteu conform metodei descrise anterior de Singleton și colab. (1999) [41]. Determinarea conținutului în flavonoide totale s-a realizat folosind metoda spectrofotometrică descrisă de Chang și colaboratorii (2002) [42]. Determinarea activității antioxidante a fost realizată prin metoda DPPH [43], ABTS[44], CUPRAC [45].

### **Rezultate și discuții**

Pentru toate cele trei plante medicinale valorile P, F și CAT au fost, în general, **mai mici pentru extractele din organele plantelor cultivate în mediu hidroponic** decât cele din mediul geoponic **cu câteva excepții. Astfel:**

Pentru **NE**, valorile polifenolilor și ale capacității antioxidante au fost mai mici în cazul extractelor obținute din organele subterane de la specii cultivate în mediu hidroponic față de cele cultivate în mediu geoponic, însă în cazul frunzelor situația a fost inversă. Nivelul flavonoidelor a fost mai redus în extractele provenite de la specimene cultivate în mediu hidroponic (în comparație cu cele cultivate în mediu geoponic), atât în cazul organelor subterane, cât și al frunzelor. Valorile capacității antioxidante au tins să fie mai mici pentru organele subterane de la specimene cultivate în mediu hidroponic, dar mai mari pentru frunzele obținute din specimene cultivate în același mediu. Așadar, în privința polifenolilor și al capacității oxidante, efectul este mai pronunțat în cazul extractelor de frunze recoltate de la specimene cultivate în mediu hidroponic și mai redus în cazul organelor subterane provenite de la specimene cultivate în același mediu. În schimb, conținutul de flavonoide este mai redus atât în organele subterane, cât și în frunzele de la specimenele cultivate în mediu hidroponic.

Pentru **TO**, valorile P și CAT sunt **extrem de mici**, iar cele pentru F sunt mici, în cazul tuturor extractelor obținute de la specimene cultivate în mediu hidroponic, atât pentru organele subterane, cât și pentru frunze.

Pentru **IG**, toate valorile P, F și CAT sunt **mai mici pentru extractele obținute de la specimene cultivate în mediu hidroponic**, atât cele derivate din organe subterane, cât și cele obținute din frunze.

## Capitolul 10. Studii farmacologice

### Introducere

TO și IG sunt plante medicinale cu o îndelungată tradiție de utilizare, în vreme ce NE, nefiind nativă în Europa, a fost utilizată mai puțin în medicina tradițională. Se cunoaște doar utilizarea tradițională a speciei în insula Fiji pentru tratarea tulburărilor menstruale [35] și posibilele efecte hormonale și citotoxice asupra celulelor canceroase umane [37]. Având în vedere datele limitate referitoare la toxicitatea celor două specii, într-o cercetare cu caracter preliminar ne-am propus **evaluarea toxicității** unor extracte vegetale din cele trei specii cultivate în sistem geoponic și hidroponic pe specii de rozătoare. În plus, ținând cont de faptul că **NE** nu a fost aproape deloc investigată din punct de vedere farmacologic până în prezent, ne-am propus și realizarea **unui screening farmacologic** la nivelul Sistemului Nervos Central (SNC) pentru decelarea efectelor produse de principiile active conținute în extractele hidro-metanolice (1:1) obținute de la această specie.



### **10.1. Testarea toxicității acute *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott, *Iris germanica* L. și *Taraxacum officinale* (L.) Webb**

Ghidul OECD 420 (1992) [46] recomandă testarea toxicității acute prin observarea semnelor clare ale toxicității, apărute în urma administrării unor doze fixe (se evită astfel moartea animalelor de experiență). Metoda permite repartizarea substanțelor, conform Sistemului Global Armonizat (GHS) de clasificare a substanțelor chimice care produc toxicitate acută, în 5 categorii [ENV/JM/MONO(2001)6, 2001] [47]. *Ne-am propus evaluarea toxicității acute pentru extractele liofilizate ale speciilor *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott., *Iris germanica* L. și *Taraxacum officinale* (L.) Webb cultivate în mediu geoponic și hidroponic.*

#### ***Principiul metodei***

Metoda constă în administrarea unor grupuri de animale de același sex, administrarea „în trepte” a unor doze fixe de 5, 50, 300 și 2000 mg/kg (în mod excepțional, o doză suplimentară de 5000 mg/kg).

Se administrează o doză de 2000 mg/kg (sau, în mod excepțional, o doză de 5000 mg/kg) unui singur animal, urmată de administrarea ulterioară la alte 4 animale, dacă nu este înregistrat niciun deces [OECD 420] [46].

#### ***Materiale și metodă***

S-a utilizat o colectivitate de 60 șoareci albi, șușa NMRI, masculi, cu greutatea inițială de  $36,97 \pm 2.67$ , achiziționați de la INCDMI „Cantacuzino” (Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Medico-Militară „Cantacuzino”, București, România). Animalele au fost cazate în cuști din plexiglas, cu pereți transparenți și cu acces la hrană și apă *ad libitum* (condiții de testare constante: temperatura de 21-23°C, umiditatea 45-60%).

S-au respectat normele de bioetică în cercetarea pe animale de experiență în scop științific, conform Legii 43/2014 modificată și completată prin Legea nr. 199/2018, privind protecția animalelor utilizate în scopuri științifice.

Animalele au fost ținute la post, cu apă *ad libitum* înaintea admnisitrării dozei unice. Șoarecii au fost cântăriți și apoi li s-a administrat extractul testat (mâncarea a fost pusă la 1-2 ore post administrare).

Extractele vegetale hidro-metanolice (1:1) liofilizate au fost obținute din frunzele și părțile subterane ale speciilor *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott., *Iris germanica* L. și *Taraxacum officinale* (L.) Webb cultivate în mediu geoponic și hidroponic.

#### ***Studiul preliminar***

S-au alcătuit 12 loturi (un șoarece/lot), care au primit în doză unică, p.o., extractele uscate, dispersate în apă distilată, sub formă de suspensie apoasă de concentrație 20%.

### ***Studiul principal***

La 48 ore după prima administrare, s-au alcătuit 12 alte loturi (4 șoareci/lot), care au primit, în doză unică, p.o., aceleași extracte, în aceeași doză. Animalele au fost observate individual după administrare, cel puțin o dată în primele 30 de minute și apoi periodic pe parcursul a 24 de ore. Greutatea a fost determinată inițial, înainte de administrare, la 7 zile, la 10 zile și la 14 zile de la începerea experimentului.

S-a urmărit semnele de toxicitate: modificări patologice la nivelul tegumentului și a mucoaselor, ale aspectului exterior, afectări la nivelul altor aparate și sisteme (aparat respirator, sistem nervos central) sau modificări de comportament. S-a urmărit în special apariția semnelor precum tremor, convulsii, hipersalivație, diaree, letargie, somn și comă.

### **Rezultate și discuții**

#### ***Studiul preliminar***

După administrarea a 2000 mg/kg corp de extract, nu s-a înregistrat letalitate și nu s-au produs modificări ale parametrilor urmăriți.

#### ***Studiul principal***

La 48 de ore după primele testări, s-a administrat din nou 2000 mg/kg corp de extract. **Nu s-a înregistrat letalitate și nu s-au produs modificări ale parametrilor urmăriți.**

### **10.2. Screening farmacologic la nivelul Sistemului Nervos Central pentru decelarea efectelor produse de principiile active conținute în extractele de *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott.**

Deoarece această specie de ferigă a fost puțin studiată din punct de vedere terapeutic, datele din literatura de specialitate privitoare la compoziția chimică a acesteia și posibilele utilizări terapeutice fiind aproape inexistente, am investigat posibilele efecte ale speciei asupra SNC printr-un screening farmacologic în teste comportamentale, pentru patru extracte liofilizate din *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott. frunze și rizomi, recoltate de la plante cultivate în mediul hidroponic ori geoponic.

#### ***Materiale și metode***

Extractele s-au administrat oral în doză zilnică de 500 mg/kg corp. Evaluarea s-a efectuat după doza unică și după o săptămână de tratament.

S-au utilizat un număr de 57 șoareci de sex masculin sușă NMRI achiziționați de la INCDMI „Cantacuzino” (Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Medico-Militară „Cantacuzino”, București, România). Animalele au fost cazate în cuști din plexiglas, cu

pereți transparenti și cu acces la hrană și la apă *ad libitum*, respectând condițiile de testare menționate la capitolul toxicitate acută.

S-au respectat normele de bioetică în cercetarea pe animale de experiență în scop științific, conform Legii 43/2014 modificată și completată prin Legea nr. 199/2018, privind protecția animalelor utilizate în scopuri.

Animalele au fost împărțite în 7 loturi (8 animale/lot) și timp de 7 zile li s-au administrat substanțele de testat. Loturile au fost tratate cu: apă distilată 0,1 mL/10g (martor/control, M); diazepam 1,5 mg/kg corp (referință negativă DZ); cafeină 20 mg/kg corp (referință pozitivă CF); *Nephrolepsis exaltata* rizomi extract hidroponic 500 mg/kg corp (NERH) și extract geoponic 500 mg/kg corp (NERG); *Nephrolepsis exaltata* frunze extract hidroponic 500 mg/kg corp (NEFH) și extract geoponic 500 mg/kg corp (NEFG);

#### ***Teste farmacologice comportamentale***

Am evaluat **activitatea locomotorie spontană, coordonarea motorie** precum și **efectele anxiogene sau anxiolitice**.

#### ***Rezultate și discuții privind parametrii și indicele de anxietate în testul labirintului suspendat în formă de plus***

A fost evidențiat un efect anxiogen, semnificativ statistic față de lotul martor, după 7 zile de tratament, pentru loturile tratate cu extract de *Nephrolepsis exaltata* obținut din rizom crescut în mediu hidroponic și geoponic și pentru extractul obținut din frunză, crescut în mediu hidroponic. Extractele testate nu au modificat semnificativ timpul petrecut în zona centrală și nici indicele de anxietate.

#### ***Rezultate și discuții privind activitatea locomotorie spontană (Activity Cage, Ugo Basile)***

Activitatea motorie verticală a scăzut semnificativ statistic după administrarea a 7 doze consecutive la loturile de animale tratate cu extractele obținute din frunze de *Nephrolepsis exaltata* crescută în mediu hidroponic și geoponic. Se poate concluziona că extractele obținute din frunzele de *Nephrolepsis exaltata* crescută în mediu hidroponic și geoponic prezintă un efect deprimant asupra SNC.

#### ***Rezultate și discuții privind activitatea motorie coordonată (testul Rotarod)***

Rezultatele cercetării au evidențiat următoarele: stimularea performanțelor motorii pentru animalele tratate cu cafeină, atât după doză unică, cât și după doze repetate. De asemenea, **extractele obținute din rizom și frunze de *Nephrolepsis exaltata* crescută în mediu hidroponic, au stimulat performanțele motorii ale animalelor testate.**

## Capitolul 11. Evaluarea potențialului de inhibare a HMG-CoA reductazei al speciilor studiate, utilizând metoda QSAR

### Introducere

QSAR este o abordare computațională care se bazează pe construirea de modele care descriu relația dintre activitatea biologică și anumite proprietăți structurale (descriptori) ale liganzilor care se leagă de o țintă biologică specifică (sau care au un anumit efect biologic) [48].

Iqbal Choudhary et al. (2005) au raportat că un extract etanolic de IG (rizomi) a redus semnificativ toate componentele lipidice, inclusiv LDL- colesterolul [49]. Autorii nu au identificat și nici nu au discutat compușii chimici responsabili sau mecanismul de acțiune implicat, iar noi nu am putut identifica alte cercetări publicate pentru a clarifica acest aspect. Prin urmare, am fost interesați să evaluăm dacă compușii biosintetizați de IG au capacitatea de a inhiba HMG-CoA-reductaza, utilizând o serie de modele QSAR pe bază de regresie pentru inhibitorii acestei enzime.

### Materiale și metode

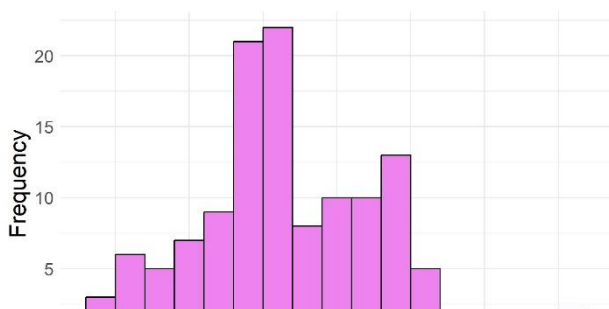
S-a utilizat un set de 1170 de inhibitori ai HMG-CoA reductazei umane, a căror activitate a fost evaluată pe baza valorilor concentrațiilor inhibitoare semimaximale (IC<sub>50</sub>), care au fost descărcați din baza de date ChEMBL (ID țintă ChEMBL402) [50]. Ca descriptori s-au utilizat amprentele digitale MACCS calculate cu ajutorul pachetului "Rcpi" [51], iar cu software-ul AlvaDesc [52] s-au calculat 3874 descriptori moleculari 2D, grupați în 18 blocuri (indici constituționali, descriptori inelari, indici topologici etc).

Am descărcat structurile chimice ale tuturor compușilor chimici raportați ca fiind identificați în specia *Iris germanica* L. în baza de date Lotus [53], s-au calculat descriptorii moleculari și apoi s-a cernut virtual fiecare compus utilizând modelele QSAR cu cea mai bună performanță.

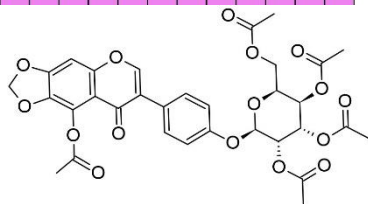
### Rezultate și discuții

S-au construit și evaluat prin validare încrucișată imbricată un număr de 300 de modele (cu diferiți algoritmi de regresie de învățare automată, metode de selecție a caracteristicilor și seturi de date privind amprentele digitale sau descriptorii). Dintre acestea, un număr de 21 de modele au avut o performanță rezonabil de bună în cadrul validării încrucișate imbricate (fie  $R^2 \geq 0,70$ , fie  $CCC \geq 0,85$ ), iar dintre acestea, doar șase au îndeplinit ambele condiții de performanță ( $R^2 \geq 0,70$  și  $CCC \geq 0,85$ ) (Tabelul S11.1 și Fig. S11.1).

S-au descărcat toți compușii chimici raportați până în prezent ca fiind identificați în specia IG din baza de date Lotus [53] a compușilor naturali, obținând un set de date de 129 de compuși care au fost supuși *screening*-ului virtual folosind modelele selectate. Șapte compuși din acest set de date s-au aflat în afara DA al tuturor celor șase modele și 12 compuși s-au aflat în DA al unui singur model dintre cele șase. 60 (46,5%) de compuși s-au aflat în DA al tuturor celor șase modele și 38 (29,5%) s-au aflat în DA al cinci din cele șase modele. Niciun compus din acest set de date nu a avut o  $IC_{50}$  precisă mai mică de 10 nM (Fig. 11.1) și numai doi compuși au fost preziși de modele ca având o  $IC_{50}$  mai mică de 100 nM, ambii fiind stereozomeri ai aceleiași structuri de bază a izoflavonei acetilate (Fig. 11.2).

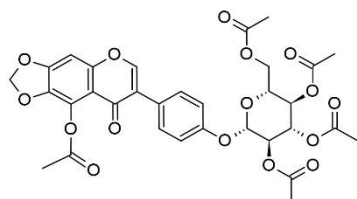


**Fig. 11.1.** Histogramă a valorilor  $pIC_{50}$  prezise pentru compușii chimici raportați în *Iris germanica* L.



[(2R,3S,4R,5R,6S)-3,4,5-triacetyloxy-6-[4-(9-acetyloxy-8-oxo-1,3-dioxolo[4,5-g]chromen-7-yl)phenoxy]oxan-2-yl]methyl acetate

**Fig. 11.2.** Două izoflavonoide acetilate din rizomul de *Iris germanica* prezise a fi foarte active împotriva HMGCoA-reductazei.



[(2S,3S,4R,5S,6R)-3,4,5-triacetyloxy-6-[4-(9-acetyloxy-8-oxo-1,3-dioxolo[4,5-g]chromen-7-yl)phenoxy]oxan-2-yl]methyl acetate

## Concluzii și contribuții personale

1. Examenle macroscopic și microscopic al celor trei specii analizate au confirmat identitatea acestora, au evidențiat caractere histo-anatomice specifice fiecăreia și au demonstrat că în toate cele trei cazuri nu există diferențe morfo-anatomice remarcabile între speciile cultivate în mediu hidroponic și, respectiv, geponic (Cap. 4).

2. Diferențele dintre parametrii analizați pentru exemplarele cultivate în mediu hidroponic și geoponic nu sunt semnificative, iar eventualele diferențe care nu au putut fi detectate din cauza puterii statistice insuficiente sunt în general mici, astfel încât este puțin probabil ca orice diferențe nedetectate să fie relevante din punct de vedere practic, cel puțin pentru variabilele de interes analizate. Acestea fac din cultivarea hidroponică a NE, TO și IG o alternativă viabilă și rezonabilă la cultivarea tradițională, geoponică (Cap. 5).
3. Nu am obținut însă în experimentele noastre dovezi ale unei superiorități clare ale uneia din metodele de cultivare asupra celeilalte (dar este posibil ca prin optimizări ulterioare să se evidențieze o asemenea superioritate, literatura indicând adesea – dar nu întotdeauna - superioritatea metodei hidroponice) (5.4, paragrafele 1-2).
4. În experimentele noastre nu am observat niciun fel de efect semnificativ al GA3 (asupra niciuneia dintre cele trei specii) și presupunem că acest fenomen este consecința concentrațiilor prea reduse utilizate de noi (maximum 0,5 mg/L). (Secțiunea 6.3.1, par. 1, 6.3.2, par. 1, 6.3.3., par. 1)
5. Nu am observat efecte semnificative ale acidului salicilic asupra frunzelor, conductanței stomatelor sau masei foliare, a organelor subterane ori a masei totale uscate, pentru speciile evaluate. La nivelurile de concentrație mai mari testate de noi (100 și 150  $\mu$ M), s-au observat tendințele unor efecte inhibitoare în privința numărului de frunze, al suprafeței foliare și un efect inhibitor semnificativ asupra conductanței stomatelor. (Secțiunea 6.3.1, par. 2, 6.3.2, par. 2, 6.3.3., par. 2)
6. Nici în privința acidului acetilsalicilic nu s-au observat efecte semnificative asupra dezvoltării celor trei specii evaluate (Secțiunea 6.3.1, par. 3, 6.3.2, par. 3, 6.3.3., par. 3).
7. La concentrațiile utilizate în studii experimentale (40 mg/L), substanțele humice nu au avut efecte benefice semnificative asupra dezvoltării celor trei specii în sistem hidroponic. Date experimentale limitate au sugerat că niveluri mai ridicate ale acestora ar putea fi benefice (în acord cu recomandarea producătorului), dar acest lucru necesită confirmare experimentală. (Secțiunea 6.3.1, par. 4, 6.3.2, par. 4, 6.3.3., par. 4).
8. Toate cele trei specii evaluate tolerează foarte bine ionii de V, Sr și Ba, fără a manifesta semne de ofilire sau alte semne de toxicitate (Cap. 7).

9. Toate cele trei specii acumulează ionii de V, Sr și Ba, dar nu toate și nu pentru toate metalele evaluate, îndeplinesc criteriile pentru a fi calificate ca hiperacumulatori (Cap. 7).
10. NE rezistă neafectată la niveluri ridicate de vanadiu, acumulează cantități relativ mari în organele subterane, dar acumularea în frunze este mult mai redusă decât în acestea. NE a concentrat mai mult Sr în părțile aeriene decât în cele subterane și în cantități foarte mari, indicând ca este hiperacumulator și foarte recomandată pentru fitoremediere, mai ales datorită faptului că nu s-a ofilit la niciuna din concentrațiile testate (Secț. 7.3.1, par. 1-4).
11. TO acumulează V în cantități mari în rizom, prezintă însă dezavantajul că acumulează puțin V în frunze. A concentrat și Sr mai mult în părțile subterane decât în cele supraterane, dar acumularea Sr s-a făcut în cantități mici, mult mai mici decât celelalte specii testate (Secț. 7.3.2, par. 1-4).
12. IG prezintă o toleranță bună atunci când este cultivat în prezența vanadiului, dar a acumulat metalul în cantități mari doar în interiorul rădăcinilor și nu în rizomi sau frunze, fiind rezistent la V, dar nu indicat pentru fitoremedierea acestuia (Secț. 7.3.1, par. 1-7).
13. IG a acumulat cantități mari de stronțiu în frunze, superioare unor hiperacumulatori menționați în literatură, fiind o specie potențial utilă în fitoremedierea acestui metal (Secț. 7.3.1, par. 8-9).
14. Deși speciile evaluate au acumulat cantități modeste de bariu, niciuna dintre ele nu corespunde unui hiperacumulator (Secț. 7.3.1, par. 5-6; par. 5; Secț. 7.3.3., par. 10-11).
15. Efectul inhibitor redus al frunzelor de NE cultivate în mediu hidroponic (ca și în mediu geoponic), observat în testul *Triticum*, precum și letalitatea scăzută observată în biotestul *Artemia*, sugerează că planta poate fi utilizată în siguranță în scopuri terapeutice (Secț. 8.3.1, par. 1-7; secț. 8.3.3., par. 1-2).
16. Ambele teste (*Triticum* și *Artemia*) au indicat niveluri relativ reduse de toxicitate ale frunzelor și organelor subterane de TO, constatări concordante cu evaluările de toxicitate acută la șobolan ale unor extracte obținute din această specie (Secț. 8.3.1, par. 8-14; secț. 8.3.3., par. 3).
17. Toate evaluările toxicității realizate de noi au indicat că extractele obținute din IG, atât din frunze, cât și din organele subterane, au o toxicitate acută foarte limitată sau sunt lipsite de toxicitate. Acestea sunt în acord cu datele disponibile în spațiul public

care sugerează că IG este o specie puțin toxică pentru om (dar cu toxicitate remarcabilă pentru animalele de companie și bovine; nu este clar care este mecanismul acestei diferențe) (Secț. 8.3.1, par. 15-18; secț. 8.3.2.; secț. 8.3.3., par. 4-6).

18. Cel mai abundent conținut de polifenoli, flavonoide și cea mai mare capacitate antioxidantă au fost înregistrate la specia IG, în vreme ce valorile cele mai reduse ale acestorași variabile au fost înregistrate la specia TO (IG>NE> TO) (Secț. 9.3).
19. În general, valorile pentru polifenoli, flavonoide și capacitatea antioxidantă, au fost mai mari pentru organele subterane decât pentru frunze cu excepția extractelor obținute de la NE cultivată în mediu hidroponic (Secț. 9.3).
20. Conținutul de polifenoli, flavonoide și capacitatea antioxidantă au fost mai mari la speciile cultivate în sistem geponic decât în sistem hidroponic, cu excepția frunzelor de NE cultivate în sistem hidroponic, la care conținutul de flavonoide și capacitatea antioxidantă au fost mai mari (Secț. 9.3).
21. Rezultatele obținute sugerează ca pentru TO cultura hidroponică nu ar fi recomandabilă, cel puțin cu parametrii de cultivare utilizați de noi (Secț. 9.3).
22. Sunt necesare studii de optimizare care pot avea ca rezultat conținuturi mai abundente de polifenoli și flavonoide în toate organele celor trei specii vegetale investigate (Secț. 9.4).
23. Evaluarea toxicității acute în conformitate cu ghidul OECD 420, adoptat în iulie 1992, a evidențiat faptul că nu a apărut efect letal în urma administrării extractelor testate la doza de 2000 mg/kg corp, administrate p.o. De aceea, conform ghidului OECD 420 extractele NERG, NERH, NEFG, NEFH, IGRG, IGRH, IGFG, IGFH, TORG, TORH, TOFG și TOFH s-au încadrat în categoria 5 (DL50 > 5000 mg/kg, p.o), în conformitate cu datele incluse în Sistemul Global de Armonizare (Global Harmonised System-GHS) - ENV/JM/MONO(2001)6, 2001] (Secț. 10.1)
24. Am evaluat efectului anxiolitic pentru extractele obținute din rizomi și frunze de *Nephrolepis exaltata* crescută în mediu hidroponic și geponic, utilizând testul labirintului în formă de plus. Acțiunea anxiolitică exprimată prin creșterea timpului petrecut în brațele deschise nu a fost evidențiată pentru niciuna dintre substanțele de testat. De asemenea, numărul de intrări ale animalelor în brațele deschise ale labirintului nu s-a modificat semnificativ statistic pentru niciuna dintre substanțele testate (Secț. 10.2, par. 24-29).



25. A fost evidențiat un efect anxiogen, semnificativ statistic față de lotul martor, după 7 zile de tratament, pentru loturile tratate cu extract de *Nephrolepsis exaltata* obținut din rizom crescut în mediu hidroponic și geoponic și pentru extractul obținut din frunză, crescut în mediu hidroponic. Același efect este evidențiat și la cafeină, substanța anxiogenă de referință (Secț. 10.2, par. 24-29).
26. Extractele testate nu au modificat semnificativ timpul petrecut în zona centrală și nici indicele de anxietate și se poate concluziona că niciunul dintre cele 4 extracte *nu prezintă activitate anxiolitică* (Secț. 10.2, par. 24-29).
27. Evaluarea activității motorii a animalelor tratate cu extractele de testat au demonstrat scăderea activității motorii verticale și orizontale pentru animalele tratate cu extracte obținute din frunze și rizom de *Nephrolepsis exaltata* crescută în mediu hidroponic și geoponic. Se poate concluziona că extractele obținute din frunzele de *Nephrolepsis exaltata* crescută în mediu hidroponic și geoponic prezintă un efect deprimant asupra SNC, cuantificat prin scăderea semnificativă a activității motorii orizontale și verticale a animalelor tratate (Secț. 10.2, par. 30-34).
28. Evaluarea activității motorii coordonate în testul rotarod pentru extractele obținute din rizom și frunze de *Nephrolepsis exaltata* crescută în mediu hidroponic și geoponic a demonstrat stimularea performanței motorii și creșterea vitezei de rotație la care se menține coordonarea pentru extractul obținut din rizom de *Nephrolepsis exaltata* crescută în mediu hidroponic. Același efect s-a obținut și asupra parametrilor timp de rezistență vitezei de rotație la care se menține coordonarea după administrarea a 7 doze consecutive (Secț. 10.2, par. 35-37).
29. S-au dezvoltat o serie de modele QSAR, validate adecvat, cu o bună performanță, care au fost utilizate pentru screening-ul virtual al compușilor chimici din IG și s-au identificat compușii cu activitate moderată de inhibare a HMG-CoA reductazei, care ar putea explica acțiunea de hipocolesterolemiantă a extractelor din rizom. Dintre aceștia, cei mai potenți sunt doi stereoizomeri ai unei izoflavone acetilate și un derivat sesquiterpenic (4-metil-2-[(1S,5R)-2,5,6,6-tetrametilciclohex-2-en-1-il]furan) (Cap. 11).

### **Bibliografie selectivă**

- [1] Davtyan G. The productivity of medicinal, essential oil and condiment plants grown under open-air hydroponics. *Hortic Abstr* 1976;46:619–29.
- [2] Atherton HR, Li P. Hydroponic cultivation of medicinal plants—plant organs and hydroponic systems: Techniques and trends. *Horticulturae* 2023;9:349.

- [3] Maggini R, Kiferle C, Guidi L, Pardossi A, Raffaelli A. Growing medicinal plants in hydroponic culture. *International Symposium on Advanced Technologies and Management Towards Sustainable Greenhouse Ecosystems: Greensys2011* 952, 2011, p. 697–704.
- [4] Tu S, Ma L, Luongo T. Root exudates and arsenic accumulation in arsenic hyperaccumulating *Pteris vittata* and non-hyperaccumulating *Nephrolepis exaltata*. *Plant and Soil* 2004;258:9–19.
- [5] Fayiga A, Ma L, Santos J, Rathinasabapathi B, Stamps B, Littell R. Effects of arsenic species and concentrations on arsenic accumulation by different fern species in a hydroponic system. *International Journal of Phytoremediation* 2005;7:231–40.
- [6] Gurung C, Gurung A. Ex situ conservation of three Himalayan ferns through hydroponic culture under Greenhouse conditions. *Pleione* 2019;13:216. <https://doi.org/10.26679/Pleione.13.2.2019.216-225>.
- [7] Di Napoli A, Zucchetti P. A comprehensive review of the benefits of *Taraxacum officinale* on human health. *Bulletin of the National Research Centre* 2021;45:110. <https://doi.org/10.1186/s42269-021-00567-1>.
- [8] Martinez M, Poirrier P, Chamy R, Prüfer D, Schulze-Gronover C, Jorquera L, et al. *Taraxacum officinale* and related species—An ethnopharmacological review and its potential as a commercial medicinal plant. *Journal of Ethnopharmacology* 2015;169:244–62.
- [9] Schütz K, Carle R, Schieber A. *Taraxacum*—a review on its phytochemical and pharmacological profile. *Journal of Ethnopharmacology* 2006;107:313–23.
- [10] Yousefsani BS, Boozari M, Shirani K, Jamshidi A, Dadmehr M. A review on phytochemical and therapeutic potential of *Iris germanica*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2021;73:611–25.
- [11] Kukula-Koch W, Sieniawska E, Widelski J, Urjin O, Głowniak P, Skalicka-Woźniak K. Major secondary metabolites of *Iris* spp. *Phytochemistry Reviews* 2015;14:51–80.
- [12] Khatib S, Faraloni C, Bouissane L. Exploring the use of iris species: Antioxidant properties, phytochemistry, medicinal and industrial applications. *Antioxidants* 2022;11:526.
- [13] Ent A van der. Hydroponics in physiological studies of trace element tolerance and accumulation in plants focussing on metallophytes and hyperaccumulator plants 2024.
- [14] January MC, Cutright TJ, Van Keulen H, Wei R. Hydroponic phytoremediation of Cd, Cr, Ni, As, and Fe: Can *Helianthus annuus* hyperaccumulate multiple heavy metals? *Chemosphere* 2008;70:531–7.
- [15] Flora of North America Editorial Committee eds. *Flora of North America: Volume 2: Pteridophytes and Gymnosperms*. vol. 2. Oxford University Press; 1993.
- [16] Elliott A, Hyam R, Ulate W. The World Flora Online Consortium 2023;World Flora Online Plant List June 2023.
- [17] Dinu M, Ancuceanu R, Anghel A, Rebegea O, Hovaneț M, Olaru O. *Pharmaceutical Botany, Theoretical and Practical Bases, Cytology, Histology, Organography*. *Pharmaceutical Botany, Theoretical and Practical Bases, Cytology, Histology, Organography.*, Ed. Universitară, Bucharest; 2013.
- [18] Herth W, Schnepf E. The fluorochrome, calcofluor white, binds oriented to structural polysaccharide fibrils. *Protoplasma* 1980;105:129–33.
- [19] Kramer KU, Green PS, Green P, Götz E. *Pteridophytes and gymnosperms*. vol. 1. Springer Science & Business Media; 1990.
- [20] Ancuceanu R. *Chemotaxonomia licofitelor si ferigilor*, Ed. Printech, Bucuresti 2013:63–72.
- [21] Nauman C. *Nephrolepis*. *Flora of North America* 1993;2:305–8.
- [22] Syed A-A, Khan ZA, Chattha SH, Shaikh IA, Ali MNHA, Dahri SH, et al. Comparative Assessment of Hydroponic and Geoponic Cultivation Systems for Sustainable Spinach Cultivation. *Pakistan Journal of Agricultural Research* 2021;34.
- [23] Okonwu K, Akonye LA, Mensah SI. Nutritional Composition of *Telfairia occidentalis* leaf grown in hydroponic and geoponic media. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* 2018;22:259. <https://doi.org/10.4314/jasem.v22i2.18>.
- [24] Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods* 2012;9:671–5. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>.

- [25] R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2024.
- [26] Courvoisier DS, Renaud O. Robust analysis of the central tendency, simple and multiple regression and ANOVA: A step by step tutorial. *International Journal of Psychological Research* 2010;3:78–87.
- [27] Jitoreanu A, Ioana-Cezara C, Trifan A, Pădureanu S, Agoroaei L. *Triticum aestivum* assay-a useful tool for environmental monitoring and toxicity assessment. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 2019;47:1005–18.
- [28] Lyu J, Park J, Pandey LK, Choi S, Lee H, De Saeger J, et al. Testing the toxicity of metals, phenol, effluents, and receiving waters by root elongation in *Lactuca sativa* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2018;149:225–32.
- [29] Nguyen CM, Van Nguyen T, Pham TH, Vu HG, Ninh KB, Linh TM. Optimization of brine shrimp lethality test for *in vivo* toxicity evaluation of poisonous plant species collected from Quang Tri province: BRINE SHRIMP LETHALITY TEST. *Academia Journal of Biology* 2024;46:55–67.
- [30] Popovici PC, Ancuceanu R, Olaru O, Stoicescu C, Dinu M. TOXICITY ASSESSMENT OF *NEPHROLEPIS EXALTATA* (L.) SCHOTT. *Acta Medica Marisiensis* 2018;64.
- [31] Iancu IM, Bucur LA, Schroder V, Mireșan H, Sebastian M, Iancu V, et al. Phytochemical evaluation and cytotoxicity assay of *Lythri herba* extracts. *Farmacia* 2021;69:51–8.
- [32] Ancuceanu R, Zbârcea CE, Cojocaru-Toma M, Calalb T, Anghel A-I, Negreș S, et al. Non-clinical toxicity and phytotoxicity of two herbal extracts. *Farmacia* 2016;64:763–9.
- [33] Dinu M, Anghel A-I, Olaru O-T, Șeremet OC, Calalb T, Cojocaru-Toma M, et al. Toxicity investigation of an extract of *Amaranthus retroflexus* L. (Amaranthaceae) leaves. *Farmacia* 2017;65:289–94.
- [34] Bagur-González MG, Estepa-Molina C, Martín-Peinado F, Morales-Ruano S. Toxicity assessment using *Lactuca sativa* L. bioassay of the metal (loid) s As, Cu, Mn, Pb and Zn in soluble-in-water saturated soil extracts from an abandoned mining site. *Journal of Soils and Sediments* 2011;11:281–9.
- [35] Cambie RC, Ash J. *Fijian medicinal plants*. CSIRO publishing; 1994.
- [36] Singh S, Singh R. Ethnomedicinal use of Pteridophytes in reproductive health of tribal women of Pachmarhi Biosphere Reserve, Madhya Pradesh, India. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 2012;3:4780.
- [37] Bobach C, Schurwanz J, Franke K, Denkert A, Van Sung T, Kuster R, et al. Multiple readout assay for hormonal (androgenic and antiandrogenic) and cytotoxic activity of plant and fungal extracts based on differential prostate cancer cell line behavior. *Journal of Ethnopharmacology* 2014;155:721–30.
- [38] Benalia A, Djjebar AA, others. Evaluation of the acute toxicity of dandelion (*Taraxacum officinale*) roots. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 2020;10:159–63.
- [39] Faria T, Nascimento C, De Vasconcelos S, Stephens P. Literature review on the biological effects of *Taraxacum officinale* plant in therapy. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development* 2019;7:94–9.
- [40] Csepregi K, Neugart S, Schreiner M, Hideg É. Comparative evaluation of total antioxidant capacities of plant polyphenols. *Molecules* 2016;21:208.
- [41] Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, vol. 299, Elsevier; 1999, p. 152–78.
- [42] Chang C-C, Yang M-H, Wen H-M, Chern J-C. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 2020;10. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>.
- [43] Kedare SB, Singh R. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology* 2011;48:412–22.
- [44] Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry* 2004;37:277–85.
- [45] Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE. Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in

- the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method. J Agric Food Chem 2004;52:7970–81.  
<https://doi.org/10.1021/jf048741x>.
- [46] OECD Guideline 420. Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure. 2001.
- [47] Harmonized Integrated Hazard Classification System For Human Health And Environmental Effects Of Chemical Substances. n.d.
- [48] Leelananda SP, Lindert S. Computational methods in drug discovery. Beilstein Journal of Organic Chemistry 2016;12:2694–718. <https://doi.org/10.3762/bjoc.12.267>.
- [49] Choudhary MI, Naheed S, Jalil S, Alam JM, Atta-ur-Rahman. Effects of ethanolic extract of *Iris germanica* on lipid profile of rats fed on a high-fat diet. Journal of Ethnopharmacology 2005;98:217–20. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.01.013>.
- [50] Gaulton A, Hersey A, Nowotka M, Bento AP, Chambers J, Mendez D, et al. The ChEMBL database in 2017. Nucleic Acids Res 2017;45:D945–54.  
<https://doi.org/10.1093/nar/gkw1074>.
- [51] Cao D-S, Xiao N, Xu Q-S, Chen AF. Rcpri: R/Bioconductor package to generate various descriptors of proteins, compounds and their interactions. Bioinformatics 2015;31:279–81.  
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu624>.
- [52] Mauri A. alvaDesc: A Tool to Calculate and Analyze Molecular Descriptors and Fingerprints. In: Roy K, editor. Ecotoxicological QSARs, New York, NY: Springer US; 2020, p. 801–20.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0150-1\\_32](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0150-1_32).
- [53] Rutz A, Sorokina M, Galgonek J, Mietchen D, Willighagen E, Gaudry A, et al. The LOTUS initiative for open knowledge management in natural products research. Elife 2022;11:e70780.

### Lista cu lucrările științifice publicate

Articole publicate în reviste de specialitate:

➤ **Popovici PC**, Ancuceanu VR, Olaru OT, Stoicescu CS, Dinu M,  
 Toxicity Assessment of *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott, Fam. *Nephrolepidaceae*,  
 Acta Biologica Marisensis, 2018, 1(1):27-36

DOI: [10.2478/abmj-2018-0004](https://doi.org/10.2478/abmj-2018-0004)

Capitolul 4, paginile 27-29, 36; capitolul 8, paginile 79-81.

➤ **Popovici PC**, Ancuceanu VR, Dinu M, Microscopic characterization and toxicological assessment of *Iris germanica* L. cultivated under hydroponic and geoponic conditions, Farmacia, 2022, 70(5): 861

<https://doi.org/10.31925/farmacia.2022.5.11>

Web of Science Core Collection, JCR® **Impact Factor** – 1,55 for 2021

Capitolul 4, paginile 32-36; capitolul 8, paginile 84-90.