

UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ
A BANATULUI
“REGELE MIHAI I AL ROMÂNIEI” DIN TIMIȘOARA



FACULTATEA DE AGRICULTURĂ

BOJINESCU N. FLORINA NICOLETA

TEZĂ DE DOCTORAT

Conducător Științific:
Prof.univ.dr.ing. GEORGETA POP

Timișoara
2022

UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ
A BANATULUI
“REGELE MIHAI I AL ROMÂNIEI” DIN TIMIȘOARA



FACULTATEA DE AGRICULTURĂ

BOJINESCU FLORINA NICOLETA

TEZĂ DE DOCTORAT

**STUDIU PRIVIND ACTIVITATEA ANTIFUNGICĂ A
ULEIULUI ESENȚIAL DE MONARDA DIDYMA CULTIVATĂ
LA SDE TIMIȘOARA**

Conducător Științific:
Prof.univ.dr.ing. GEORGETA POP

**Timișoara
2022**

BANAT’S UNIVERSITY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND
VETERINARY MEDICINE
“KING MICHAEL I FROM ROMANIA” TIMIȘOARA



Faculty of Agriculture

BOJINESCU N. FLORINA NICOLETA

PH.D. THESIS

Scientific Coordinator:
Prof.univ.dr.ing. GEORGETA POP

Timișoara
2022

BANAT'S UNIVERSITY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND
VETERINARY MEDICINE
“KING MICHAEL I FROM ROMANIA” TIMIȘOARA



Faculty of Agriculture

BOJINESCU N. FLORINA NICOLETA

PH.D. THESIS

**STUDY ON THE ANTIFUNGAL ACTIVITY OF *MONARDA
DIDYMA* L. ESSENTIAL OIL CULTIVATED AT THE
DIDACTIC EXPERIMENTAL STATION IN TIMISOARA**

Scientific Coordinator:
Prof.univ.dr.ing. GEORGETA POP

**Timișoara
2022**

UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ
A BANATULUI
“REGELE MIHAI I AL ROMÂNIEI” DIN TIMIȘOARA



FACULTATEA DE AGRICULTURĂ

BOJINESCU FLORINA NICOLETA

REZUMAT
TEZĂ DE DOCTORAT

**STUDIU PRIVIND ACTIVITATEA ANTIFUNGICĂ A
ULEIULUI ESENȚIAL DE MONARDA DIDYMA CULTIVATĂ
LA SDE TIMIȘOARA**

Conducător Științific:
Prof.univ.dr.ing. GEORGETA POP

Timișoara
2022

REZUMAT

Motivația alegerii temei de cercetare

Tema tezei de doctorat abordează studiul particularităților agrobiologice și de cultivare a speciei *Monarda didyma* L., având ca obiectiv obținerea de biocompuși activi cu acțiune antifungică utilizați în protecția produselor agroalimentare ecologice.

Studiul urmează direcția de cercetare științifică privind combaterea fungilor pentru reducerea pierderilor cauzate de agenții patogeni din materialul vegetal.

De asemenea, preocuparea pentru calitatea produselor primare de origine vegetală este tot mai accentuată în zilele noastre. Evitarea utilizării compușilor chimici prin tratamente fitosanitare este principala modalitate de asigurare a unor produse necontaminate cu reziduuri de pesticide. În acest scop se caută soluții alternative care să asigure o protecție a culturilor și a recoltelor ecologice. Alături de alți fitocompuși, uleiurile esențiale sunt printre cele mai promițătoare soluții pentru înlocuirea substanțelor chimice sintetice antifungice folosite în prezent. Tematica studiată conferă informații cu privire la cultivarea speciei *Monarda didyma* sub influența condițiilor pedoclimatice asupra calității materialului vegetal și a uleiului esențial cu proprietăți antifungice.

Importanța și actualitatea temei

Specia *Monarda didyma* L., originară din America de Nord, răspândită la ora actuală în Europa și Asia, aparținând familiei *Lamiaceae* se numără printre culturile mai puțin studiate în țara noastră. Cercetările întreprinse de noi au avut ca obiectiv principal cunoașterea agrobiologiei speciei *Monarda didyma* L., în vederea extinderii culturii, în vestul țării. Partea de Vest a țării noastre asigură condiții de climă și sol, favorabile cultivării speciei *Monarda*, chiar și în ani diferiți din punct de vedere climatic. Rezultatele obținute au evidențiat gradul de adaptabilitate a culturii de *Monarda didyma* L., pretându-se cel mai bine spre a fi cultivată în Câmpia de Vest. În cadrul temei de cercetare un alt obiectiv a fost analiza compoziției chimice a uleiului esențial de *Monarda* pentru a evidenția compușii majoritari cu acțiune antifungică. Studiul principal al acestei lucrări este determinarea în laborator a potențialului antifungic al uleiului esențial extras din cultura de *Monarda didyma* L. asupra fungilor *Aspergillus flavus* și *Botrytis cinerea*.

Prezentarea pe scurt a conținutului. Această lucrare este structurată în două părți.

Prima parte a tezei, cuprind două capitole în care sunt prezentate date preluate din literatura de specialitate referitor la aspectele generale privind utilizarea, istoricul plantelor aromatice și acțiunea principiile active din plante aparținând familiei *Lamiaceae* și elemente specifice cultivării plantelor aromatice (zonare, climatul și solurile, tehnologia de cultivare).

Capitolul al doilea prezintă considerații generale cu referire la specia *Monarda didyma* (descriere, compoziția chimică a uleiului esențial și tehnologia de cultură).

În *partea a doua* sunt prezentate cercetările proprii privind comportarea speciei *Monarda didyma* cultivată în condițiile pedoclimatice de la Stațiunea Didactică Experimentală a USAMVBT, urmând elementele din tehnologie, de la plantat până la recoltare.

În laboratorul din cadrul disciplinei de Plante medicinale și aromatice, s-a realizat: condiționarea materialului vegetal, măsurătorile biometrice, extracția, analiza calitativă și cantitativă a uleiului esențial. În ceea ce privește uleiurile esențiale obținute din cultură, au fost analizate sub aspectul compoziției chimice, al efectului biologic și capacitatea antifungică asupra fungilor *Aspergillus flavus* și *Botrytis cinerea* în laboratorul de Microbiologie.

Gradul de încadrarea temei în preocupările internaționale, naționale, regionale, ale colectivului de cercetare.

Monarda didyma reprezintă o specie de perspectivă, recunoscută atât ca plantă aromatică cât și medicinală întâlnită în flora spontană a Americii de Nord. În multe țări ale Europei și Americii a fost introdusă în cultură ca plantă condimentară - aromatică. La noi este o specie recent introdusă în cultură, ca plantă condimentară-aromatică, medicinală și decorativă.

Uleiul esențial obținut din herba și inflorescențe este utilizat în cosmetologie, deoarece accelerează procesul de regenerare la nivel celular. Genul *Monarda* este o sursă de substanțe antifungice active, împotriva celor două genuri de fungi (*Aspergillus*, *Botrytis*) precum și împotriva agenților patogeni care pot provoca boli fungice.

Uleiul esențial de *Monarda* este considerat cel mai valoros deoarece este utilizat în medicină, pentru a trata arsurile, eczeme, căderea părului, acneei și normalizați activitatea glandelor sebacee, sub formă de infuzie, suc din frunze și inflorescențe cât și în parfumerie.

Părțile aeriene ale plantei (herba) conțin până la 3% ulei esențial (EM), totuși se concentrația cea mai mare este în principal în frunze și inflorescențe, iar tulpini conțin o cantitate mai mică, doar de 0,06-0,08%.

Principiile active din frunze și tulpini au un puternic efect bactericid, iar uleiul contribuie la distrugerea microorganismelor dăunătoare, a ciupercilor, a virușilor și chiar a micoplasmei.

Principiile active conțin un compus din care face parte și timina analgezică naturală, caracterizată printr-o proprietate antiseptică excelentă. De asemenea, vitaminele, retinoizii și antioxidanții care intră în compoziția chimică a produsului principal utilizat au proprietăți antifungice, hemostatice, regenerative și imunostimulatoare asupra organismului.

În scopuri terapeutice compușii bioactivi obținuți din monarda conțin cel mai valoros agent bactericid cu un spectru larg de acțiune. Proprietățile terapeutice ale uleiului esențial contribuie la ameliorarea spasmelor, la reducerea inflamației, la eliminarea toxinelor din organism, la întărirea sistemului imunitar și la combaterea răcelilor.

Obiectivele științifice propuse pentru rezolvare în cadrul cercetării științifice.

Scopul cercetărilor a fost evaluarea potențialului antifungic al uleiului esențial obținut din cultura de *Monarda didyma* sub influența factorilor climatici din zona Stațiunii Didactice Experimentale a USAMVBT.

Obiectivele cercetărilor au urmat trei direcții:

- cultivarea și monitorizarea comportării culturii de *Monarda didyma* privind particularitățile agrobiologice a speciei și interacțiunea cu factorii de mediu;
- obținerea și analiza compoziției chimice a uleiului esențial;
- elaborarea unui studiu privind evaluarea acțiunii antifungice a uleiurilor volatile obținute din *Monarda didyma* asupra fungilor *Aspergillus flavus* și *Botrytis cinerea*

Comentarii sintetice privind noutatea/gradul de inovare a metodei/metodologiei de cercetare. Noutatea studiilor constă în: (I) investigarea speciei *Monarda didyma* cultivată în condițiile pedoclimatice de la SDE Timișoara cu scopul cunoașterii și a extinderii în structura de culturi medicinale și aromatice (II) obținerea uleiului esențial din specia *Monarda didyma* cultivată în câmpul experimental propriu, (III) determinarea compoziției chimice a uleiului esențial și efectuarea unui număr mare de măsurători biometrice pentru stabilirea potențialului de biomasă vegetală sub influența factorilor climatici (IV) evaluarea capacității antifungice a uleiului esențial asupra fungilor *Aspergillus flavus* și *Botrytis cinerea*.

CONȚINUTUL TEZEI DE DOCTORAT

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII ÎN DOMENIUL PLANTELOR AROMATICE

Capitolul 1 . Aspecte generale privind utilizarea plantelor aromatice

În țara noastră cultivarea plantelor medicinale și aromatice prezintă o favorabilitate datorită terenurilor propice pentru aceste culturi. Calitatea materialului vegetal este dată de conținutul de principii active. Diversitatea de principii active de care planta dispune este influențată de o serie de factori ecologici, de tehnologia de cultură, de zonă din care provine specia, de baza biologică a cultivarului (populație, soi, hibrid etc.) și de metodele de prelucrare inițială și secundară. În alegerea unei specii pentru cultivarea într-un anumit areal trebuie să se țină cont de complexitatea interacțiunii diferiților factori de vegetație. Astfel trebuie asigurat un raport optim între pretențiile biologice și condițiile oferite de sol. Evitându-se cadre în care condițiile naturale pot determina creșterea producției de material vegetal în dauna conținutului în principii active. Cultivarea plantelor aromatice și medicinale în țara noastră este favorizată de condițiile solului. Diversitatea lor imprimă o varietate de specii, care arată o sursă de material vegetal pentru medicină, alimentație și farmacie.

Rezolvarea problemei producției de ulei volatil, presupune introducerea în cultură a noi specii, soiuri și hibrizi de plante aromatice cu o productivitate și calitate superioară, un rol important în rezolvarea acestei probleme revine elaborării și implementării unor recomandări, privind cultivarea plantelor aromatice atât ale celor tradiționale, cât și celor ce urmează a fi introduse în cultură.

În România se cultivă plante aromatice tradiționale- salvia, mentă, levănțica s.a.. pentru care sunt elaborate procedeele agrotehnice. Concomitent se desfășoară cercetări în vederea lărgirii sortimentului de plante aromatice. O specie de perspectivă, recunoscută ca plantă aromatică și medicinală este *Monarda didyma* care se întâlnește în flora spontană a Americii de Nord. În multe țări ale Europei și Americii a fost introdusă în cultură ca plantă condimentară - aromatică. La noi este o specie introdusă, care se cultivă pe loturi de lângă casă, în parcuri, grădini ca plantă condimentar-aromatică, medicinală și decorativă.

Plantele medicinale sunt o grupă de specii vegetale care concentrează în anumite părți ale plantei diverse substanțe active utile în tratarea diferitelor afecțiuni.

Menirea acestei lucrări este de-a trasa o serie de directive pentru utilizarea uleiurilor esențiale într-un mod real și eficient, fără a cauza efecte secundare dăunătoare, asemenea multor medicamente concentrate.

Pe plan Mondial, se aproximează că în prezent sunt utilizate în fitoterapie peste 2000 de specii de plante aromatice și medicinale, din care cel mai adesea sunt utilizate 300 de specii.

În prezent, ca urmare a promovării beneficiilor fitoterapiei și a cerinței de plante medicinale pe piața europeană, se remarcă o revigorare a interesului acordat cultivării de plante medicinale în deosebi la nivel micro în ferme de tip familial. În ceea ce privește destinația producției de plante medicinale, 10-15 % este utilizată pe piața locală, 20-25 % pe piața națională și 60-70 % pe piața internațională .

Condițiile climatice și de sol din regiunea de vest a țării, Banatul, au favorizat dezvoltarea unei flore impresionante prin bogăție și variabilitate. În ceea ce privește numărul și importanța speciilor de interes farmaceutic, familia Lamiaceae, apare ca fiind una dintre cele mai însemnate, oferind un teren imens pentru studiu și cercetare.

De asemenea, Familia *Lamiaceae* este cea mai importantă sursă de plante aromatice care calmează și relaxează, fortifică și stimulează sau apară de agresiuni cu efecte specifice legate de un anumit organ, aparat sau sistem. Nu în ultimul rând, efectele naturale antibacteriene, antioxidante, antimorale demonstrate ale principiilor active din plantele medicinale aparținând familiei Lamiaceae le recomandă ca alternative viabile produselor de sinteză în terapia diferitelor afecțiuni. Utilizarea fito-chimicalelor nu prezintă efecte secundare, dar conduce la efecte terapeutice asemănătoare și pot fi utilizate timp îndelungat.

S-a avut în vedere studiul compoziției chimice în corelație cu condițiile pedoclimatice și capacitatea antifungică a uleiului volatil din materialul vegetal cultivat.

Monarda acționează ca o antihelmintică ușoară și, spre deosebire de altele (pelinul santonin, pelinul cicatric sau preparatele sintetice) nu provoacă otrăvire în timpul supradozajului. O caracteristică importantă a Monardei este stimularea activității cardiace și capacitatea de a elimina nevroze cardiace, datorită conținutului în frunze și flori de flavonoide și vitamina C.

Antocianinele au un efect diuretic, și, de asemenea consolidarea pereților capilarelor și dilată vasele coronariene ale inimii.

Yalta Institutul de Cercetări Metode fizice de tratament și Climatologie medical experimentat a primit un certificat privind drepturile de autor pentru utilizarea (EOM) Monarda fistulosa ca agent radioprotector pentru tratamentul astmului bronșic, bronșită cronică și traheită ca un mijloc de a facilita grefarea țesutului străin, și ca sânge conservant. Prezența substanțelor flavonoide cu un puternic efect antiseptic și antiinflamator în uleiul esențial explică eficacitatea sa împotriva diversilor agenți patogeni (bacterii, ciuperci, protozoare, etc.).

Deși o destul de largă gamă de imunomodulatori este disponibilă, ca aplicație în acest EM volatil, inclusiv Monarda, pare justificată de efectul inerent moale ca imunomodulator fiind susținută și absența aproape completă a reacțiilor secundare utilizate în intervalul de concentrații scăzute (naturale).

Există dovezi că, prin saturarea mediului unei încăperi izolate cu doze naturale de fracțiuni EM volatil, s-a observat o scădere a nivelului microflorei de aer și a condensatului atmosferic. VV Nicholas și coautorii săi (1988) au descoperit că uleiurile esențiale de monarda, lavandă și altele influențează activitatea funcțională a limfocitelor T. EM de Cardiaris activează funcția pungii din fabrică a timusului și splinei cu involuția lor incomplet incidentală, care provoacă imunodeficiență la puii de carne.

Un interes deosebit este utilizarea EM monardelor pentru tratamentul bolilor sistemului bronhopulmonar. Rezultatele obținute în cadrul Universității de Stat Adygeya și Tomsk Institutul

Medical, rezultatele au arătat proprietăți antimicrobiene ridicate de EM Monarda și posibilitatea de a utiliza pentru sălile de clasă de aerare cu aer, clase, cinematografe, cabinete medicale, copii și alte spații publice, în special în timpul focarelor de gripă și a altor răceli. A fost eficient împotriva celui mai simplu - Trichina, Amoeba. Monarda normalizează ciclul de disfuncție la femeile tinere, este contraindicat în timpul sarcinii.

Genul Monarda este foarte promițătoare ca sursă de substanțe antifungice active, împotriva reprezentanților celor trei genuri de fungi (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*), care pot genera micotoxine și otrăvă prin aceste alimente, precum și împotriva agenților patogeni care provoacă boli fungice, în special, Trichophyton mentagrophytes, provocând herpesul Zooster la om și viermii la animale.

Uleiul esențial de Monarda este utilizat pentru a trata arsurile, eczema, căderea părului. Pentru tratament, puteți lua uleiuri esențiale pure, precum și infuzie, suc din frunze și inflorescențe. Băile contribuie, de asemenea, la vindecarea rănilor, ulcerului, eczemelor și ajută Monarda la acnee, seboreea, peeling al pielii.

Monarda s-a dovedit a fi promițătoare pentru crearea unor zone de agrement speciale, care se află în spitale, clinici și grădinițe.

O îmbunătățire semnificativă a mediului aerului interior poate fi realizată prin utilizarea speciilor de plante pentru "ecologizarea" lor, ale căror emisii volatile au proprietăți pronunțate de natură fitoncică. În acest sens, se recomandă utilizarea plantelor fitoncice în încăperi pentru îmbunătățirea mediului. Deja la o concentrație de 5 mg / m³, emisiile volatile se pot schimba și pot îmbunătăți mediul înconjurător. EM monarda a redus contaminarea aerului prin stafilococ, streptococ, difteric și pertussis de 10 ori.

S-a studiat, de asemenea, efectul uleiului esențial Monarda asupra activității proceselor metabolice, viteza de diviziune celulară și starea membranelor citoplasmice. EM a sistemului cardiovascular reduce intensitatea sintezei ADN-ului, permeabilitatea membranelor limfocitelor scade.

Numărul de limfocite viabile nu este redus. Când se adaugă ulei esențial în cultura fibroblastelor: emulsia de 0,5% duce la moartea lor și 0,005-0,0005% stimulează creșterea și diviziunea acestor celule.

Capitolul 2. Aspecte comune privind cultivarea plantelor medicinale și aromatice

2.1. Zonarea

Prin zonarea culturilor înțelegem determinarea arealelor favorabile unor culturi, bazându-se pe condițiile naturale ale arealului respective cu pretențiile biologice ale speciilor cultivate.

Aceasta se execută cu un grad de dificultate ridicat, comparativ cu grupele de plante întâlnite uzual în culturi, deoarece, pentru plantele medicinale cel mai important factor nu este reprezentat de cantitatea de masă vegetală, la aceste plante trebuie urmărit și conținutul în principii active.

Adesea se întâlnesc zone cu soluri în care este stimulată cantitatea de materie vegetală în detrimentul conținutului de principii active.

2.2. Climatul și solurile

Din pricina varietății solurilor și climei, în țara noastră flora este foarte diversificată. Găsirea condițiilor optime de creștere și dezvoltare a plantelor se află cercetând pretențiile biologice privind solurile, umiditatea, temperatura și cantitatea de lumină.

Constanta termică reprezintă totalul cantității de care o planta are nevoie pentru a parcurge întreg ciclul vegetal.

Marea majoritate a plantelor aromatice și medicinale au această valoare cuprinsă între 900 și 2200°C.

Gradul de exigență față de sol face referire în principal la structura și textura solului, adesea plantele având semințe de dimensiuni mici sunt necesare în primele stadii de dezvoltare un raport bun între aer, apă și substanțele nutritive.

2.3. Tehnologia de cultivare

Determinarea tehnologiei de cultivare pentru plantele aromatice și medicinale se face analizând specia și tipul de cultură (anuală, bienală, perenă), partea recoltată a plantei (herba, Frunze, rădăcini, flori etc) și zona de cultură (la speciile cu plasticitate ecologică amplă).

2.4. Specia Monarda didyma – descriere

Monarda se numără printre plantele erbacee, ale căror proprietăți vindecătoare erau cunoscute în antichitate. Floarea este adesea utilizată ca medicament, precum și adăugată la alimente sub formă de condimente. Specia de Monarda a fost introdusă în țara noastră în secolul al XIX-lea și pentru mult timp a avut un scop decorativ.

Astăzi, planta este utilizată pe scară largă pentru tratarea diferitelor afecțiuni, pentru întărirea sistemului imunitar și pentru rezolvarea problemelor cosmetice. Să ne familiarizăm mai degrabă cu o uzină utilă. Originară din America de Nord, această planta este adusă în Europa de către marinarii spanioli în urma descoperirii Lumii noi de către Columb.

Răspândirea pe întregul continent, incluzând și țara noastră este datorată aromei și aspectului.

Principala utilitate a acestor flori este obținerea de uleiuri esențiale.

2.5. Compoziția chimică a uleiului esențial de Monarda didyma

Planta conține compuși biologic activi și componente auxiliare. Elementele bioactive sunt terpeninele - substanțe din compoziția uleiului esențial. De asemenea, în componența lui Monarda sunt incluse: aminoacizi, substanțe amare (amărăciune), flavonoide, taninuri, celuloză, pectine, timol, carvacrol.

II. CERCETĂRI PROPRII

Capitolul 3. Obiectivul principal al cercetării a fost cultivarea speciei *Monarda didyma*, în condițiile pedoclimatice din cadrul SDE Timișoara, obținerea uleiului esențial și elaborarea unui studiu privind evaluarea activității antifungice a uleiului volatil obținut din: - *Monarda didyma* asupra două tipuri de fungi: *Aspergillus flavus* și *Botrytis cinerea*. Studiul s-a desfășurat în perioada 2018-2020.

În urma unui studiu agrochimic realizat de OSPA Timișoara elementele de caracterizare pedologică a terenurilor din Stațiunea Didactică Experimentală a U.S.A.M.V.B. Timișoara, terenul pe care a fost amplasat câmpul experimental situat în partea de est a Municipiului Timișoara și a intravilanului comunei Ghiroda și aparține Bazei Didactice și de Cercetare a universității noastre.

În cadrul Bazei Didactice și de Cercetare a U.S.A.M.V.B. Timișoara, având o suprafață de 8,59 ha, sunt două tipuri de sol: eutricambosol și vertosol.

Acest tip de sol are un conținut mare în azot total (0,14 – 0,18%), cel de fosfor este mijlociu și mic (5 – 20 ppm), iar cel de potasiu mare și foarte mare (> 200 ppm). În concluzie, se apreciază că, în această zonă se întrunesc factorii climatici și agropedologici corespunzători cerințelor de cultivare a monardei. Zona cercetată sub aspectul climatic ca și Câmpia Banatului se încadrează în climatul temperat continental moderat, la interferența dintre sectorul de provincie climatică, cu influențe oceanice și sectorul de provincie climatică, cu influențe mediteraneene. Teritoriul studiat se încadrează în zona climatului temperat continental moderat cu influențe oceanice și sub-mediteraneene. Valoarea medie a temperaturii multianuale a aerului este de 10,9 °C, specifică acestui tip de climat. Întreaga zonă de interes, se încadrează cu izotermele medii multianuale de 10°C și 11°C. Pe parcursul anului, temperatura medie a aerului prezintă oscilații sezoniere, departajind sezonul rece față de cel cald. Cea mai mare parte a localității are un regim de precipitații specific zonelor de câmpie cu valori între 550 și 650 mm. Cantitatea de precipitații medii multianuale ce cade anual pe teritoriul localității este de aproximativ 590 mm de precipitații.

Capitolul 4. Rezultatele cercetărilor privind măsurătorile biometrice ale culturii de *Monarda didyma*, din câmpul experimental de la SDE Timișoara, în perioada 2018-2020

În cadrul acestui studiu pentru determinarea randamentului de material vegetal s-au efectuat măsurători biometrice asupra plantelor studiate cu următoarele elemente: înălțimea plantelor și diametrul tufei (cm); greutate plantă întregă verde (g) și plantă întregă uscată (g), făcându-se media rezultatelor obținute.

Capitolul 5. Obținerea uleiului esențial de *Monarda didyma*. Prima etapă a studiului desfășurat în laborator a fost prezentarea metoda de extracție de obținere a uleiului volatil din recolta de *Monarda didyma*.

De asemenea, sunt prezentate rezultatele de producție (randamentul) herba proaspătă și uscată obținută din *Monarda didyma* și cantitatea de ulei esențial, în perioada de experimentare 2018-2020.

Capitolul 6. Analiza compoziției chimice a uleiului esențial obținut din *Monarda didyma*, material verde și uscat, herba și inflorescențe, prezentarea compușilor majoritari și sinteza pe cei trei ani experimentali. Determinarea profilului compozițional al uleiului esențial și descrierea metodei cromatografice.

Capitolul 7. Evaluarea acțiunii antifungice a uleiului esențial de *Monarda didyma* obținut în ciclul experimental 2018-2020. Prezentul studiu are drept obiectiv determinarea activității antifungice a uleiului volatil testat pe două specii fungice: *Botrytis cinerea* și *Aspergillus flavus*. Uleiul volatil de *Monarda didyma* inhibă dezvoltarea miceliului *Aspergillus flavus* la o concentrație 03%, de asemenea inhibă dezvoltarea miceliului *Botrytis cinerea* la o concentrație 0,2%.

Contribuțiile proprii ale autoarei

Cercetările efectuate au implicat un studiu amănunțit al literaturii în vederea extinderii în cultură speciei *Monarda didyma*, plantă medicinală de interes în această parte a României.

Specie utilizată pentru obținerea uleiului esențial cultivată și monitorizată prin măsurători biometrice pe parcursul întregii perioade de vegetație. De asemenea, au fost monitorizați factorii climatici și de sol care pot influența profilul compozițional al uleiului esențial obținut. După obținerea uleiului esențial a fost determinată compoziția chimică și compușii chimici majoritari prin analiza cromatografică.

Pentru uleiul esențial a fost realizat un studiu amănunțit cu privire la activitatea antifungică asupra două specii de fungi: *Botrytis cinerea* și *Aspergillus flavus*.

IV. ELEMENTE DE ORIGINALITATE

Cercetările efectuate în cadrul acestei teze reprezintă studii de originalitate datorită mai multor aspecte:

- Studierea unei specii medicinale mai puțin cunoscută în zona de vest a României, până în prezent și cu perspectiva de extindere în cultură pe viitor;
- Realizarea unor măsurători biometrice amănunțite pentru stabilirea momentului optim de recoltare și determinarea producției de herba, respectiv inflorescențe în stare verde și uscată, dar și a randamentului de ulei esențial;
- Determinarea compușilor majoritari ai uleiului esențial obținut din specia *Monarda didyma* cultivată sub influența condițiilor pedoclimatice specifice microzonei din cadrul SDE Timișoara;
- Realizarea unor analize amănunțite a uleiului esențial privind profilul chimic compozițional al uleiului esențial de *Monarda didyma* cu potențialul antifungic;
- Evaluarea și determinarea concentrației uleiului esențial testat ce inhibă dezvoltarea miceliului celor doi fungi: *Botrytis cinerea* și *Aspergillus flavus*.
- Rezultatele cercetărilor obținute ne permit formularea recomandării includerii uleiului esențial de *Monarda didyma* în produse ecologice cu acțiune antifungică.

Bibliografie

Bibliografia cuprinde 162 titluri bibliografice

BANAT'S UNIVERSITY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND
VETERINARY MEDICINE
“KING MICHAEL I FROM ROMANIA” TIMIȘOARA



Faculty of Agriculture

BOJINESCU N. FLORINA NICOLETA

PH.D. THESIS SUMMARY

**STUDY ON THE ANTIFUNGAL ACTIVITY OF *MONARDA
DIDYMA* L. ESSENTIAL OIL CULTIVATED AT THE
DIDACTIC EXPERIMENTAL STATION IN TIMISOARA**

Scientific Coordinator:
Prof.univ.dr.ing. GEORGETA POP

**Timișoara
2022**

PH.D THESIS SUMMARY

Motivation of research topic choice

The theme of this PhD thesis addresses the study of the agrobiological features and cultivation of *Monarda didyma* L., aimed at obtaining active bio-compounds with antifungal action used in the protection of organic agri-food products.

The study follows the scientific research direction on controlling fungi to reduce losses caused by pathogens in vegetable material.

Also, the concern for the quality of primary products of plant origin is increasingly emphasised nowadays. Avoiding the use of chemical compounds in phytosanitary treatments is the main way to ensure products uncontaminated by pesticide residues. For this purpose, alternative solutions are being sought to provide protection for organic crops. Along with other phyto-compounds, essential oils are among the most promising solutions for replacing the synthetic antifungal chemicals currently used. The topic studied provides information on the impact of *Monarda didyma* L. under the influence of pedoclimatic conditions on the quality of vegetable material and essential oil with antifungal properties.

Importance and timeliness of the topic

Monarda didyma L., original from North America, is, nowadays, spread in Europe and Asia; it belongs to the Lamiaceae family and is among the less studied cultures in our country. The research undertaken had as main objective knowing the agrobiology of *Monarda didyma* L. in order to extend the culture in the west of the country. The western part of our country provides climate and soil conditions favourable to the cultivation of *Monarda didyma* L., even in climatically different years. The results obtained have highlighted the adaptability of *Monarda didyma* L., best suited to be cultivated in the Western Plain. Another objective of the research theme was the analysis of the chemical composition of the *Monarda didyma* L. essential oil to highlight the majority of antifungal action. The main study of this paper is the laboratory determination of the antifungal oil potential extracted from *Monarda didyma* L. on *Aspergillus flavus* and *Botrytis cinerea*.

Short presentation of the contents

This thesis is structured in two parts.

The first part of the thesis comprises two chapters in which data taken from literature on the general aspects of the use, history of aromatic plants and the action of the plant active principles belonging to the Lamiaceae family and elements specific to aromatic plant cultivation (zoning, climate and soils, cultivation technology) are presented.

The second chapter presents general considerations with reference to *Monarda didyma* L. (description, chemical composition of essential oil and cultivation technology).

In the second part of the thesis, we present our own research on the behaviour of *Monarda didyma* L. cultivated under the pedoclimatic conditions of the experimental didactic station of the BUASVMT, following technology elements from planting to harvesting.

In the laboratory of medicinal and aromatic plants, we managed to carry out the following: conditioning of vegetable material, biometric measurements, extraction, and qualitative and quantitative analysis of essential oil. As regards essential oils obtained from culture, they were analysed in terms of chemical composition, biological effect and antifungal capacity on *Aspergillus flavus* and *Botrytis cinerea* in the microbiology laboratory.

Degree of theme matching international, national, regional, and research team concerns *Monarda didyma* L. is a species of perspective, recognized as both aromatic and medicinal plant found in the spontaneous flora of North America. In many countries of Europe and America, it was introduced in culture as a spice-aromatic plant. In Romania, it is a new species introduced into culture as a spice-aromatic, medicinal and decorative plant. Essential oil from herba and inflorescence is used in cosmetics because it accelerates the cellular regeneration process. *Monarda didyma* L. is a source of active antifungal substances controlling two genera of fungi (*Aspergillus*, *Botrytis*) as well as pathogens that can cause fungal diseases.

The essential oil of monarch is considered the most valuable because it is used in medicine to treat burns, eczema, hair loss, acne, and to normalize the activity of sebaceous glands in the form of infusion, leaf and inflorescence juice, as well as in perfumery.

The aerial parts of the plant (herba) contain up to 3% essential oil (EM), however, the highest concentration is mainly in leaves and inflorescences, and stems contain a smaller amount of only 0.06-0.08%. Active principles in leaves and stems have a strong bactericidal effect, and oil contributes to the destruction of harmful microorganisms, fungi, viruses and even mycoplasma.

Active principles contain compounds among which natural analgesic thymine is characterized by an excellent antiseptic property. Also, vitamins, retinoids and antioxidants that contain the chemical composition of the main product used have antifungal, haemostatic, regenerative and immunostimulatory properties on the body.

For therapeutic purposes, the bioactive compounds obtained from *Monarda didyma* L. contain the most valuable bactericidal agent with a broad spectrum of action. The therapeutic properties of the essential oil contribute to improving spasms, reducing inflammation, eliminating toxins in the body, strengthening the immune system and controlling colds.

Scientific objectives proposed for solving in this scientific research

The purpose of research was the assessment of the antifungal potential of the essential oil obtained from *Monarda didyma* L. under the influence of the climate factors in the area of the experimental didactic station of the BUASVMT.

Research objectives followed three directions:

- Cultivation and monitoring of the behaviour of *Monarda didyma* L. on the agrobiological features of the species and its interaction with environmental factors;
- Obtaining and analysing the chemical composition of essential oil;
- Elaboration of a study on the assessment of antifungal action of volatile oils obtained from *Monarda didyma* L. on *Aspergillus flavus* and *Botrytis cinerea*.

Synthetic comments on the novelty / degree of innovation of the research method / methodology

The novelty of studies consists in: (i) investigation of *Monarda didyma* L. cultivated under the pedoclimatic conditions of experimental didactic station in Timișoara for the purpose of knowledge and extension to the structure of medicinal and aromatic cultures; (ii) obtaining essential oil from *Monarda didyma* L. cultivated in its own experimental field; (iii) determining the chemical composition of the essential oil and performing a large number of biometric measurements for the establishment of the potential of vegetable biomass under the influence of climate factors; (iv) assessing the antifungal capacity of *Monarda didyma* L. essential oil on *Aspergillus flavus* and *Botrytis cinerea*.

A. CONTENTS OF THE DOCTORAL THESIS

CURRENT STATE OF KNOWLEDGE IN AROMATIC PLANTS

Chapter 1. General aspects of the use of aromatic plants

In our country, the cultivation of medicinal and aromatic plants has favourable conditions due to the suitable lands. The quality of the plant material is given by the content of active principles. The diversity of active principles that the plant has is influenced by a series of ecological factors, by cultivation technology, area of the species, biological base of cultivar (population, variety, hybrid, etc.) and initial and secondary processing methods.

In choosing a species for cultivation in a certain area, account should be taken of the complexity of the interaction of different vegetation factors. Thus, an optimal ratio must be ensured between the biological claims and the conditions offered by the soil, avoiding areas in which natural conditions can cause the production of vegetal material detrimental to the interest in active principles.

Cultivation of aromatic and medicinal plants in our country is favoured by soil conditions. Their diversity determines a variety of species, showing a source of vegetable material for medicine, food, and pharmacy. Solving the production problem of volatile oil involves the introduction of new species, varieties and hybrids of aromatic plants with high productivity and high quality; an important role in solving this problem is the development and implementation of recommendations on the cultivation of aromatic plants – both traditional plants and those to be introduced into culture.

In Romania, traditional aromatic plants are cultivated – salvia, mint, lavender, etc. – for which agrotechnical processes are developed. Concomitant research is conducted in order to expand the aromatic plant assortment.

A species of perspective, recognized as an aromatic and medicinal plant is *Monarda didyma* L. that can be met in the spontaneous flora of North America. In many countries of Europe and America, it was introduced in culture as a spice-aromatic plant. It is an introduced species, which is cultivated on plots near the house, in parks, gardens as a seasonal-aromatic, medicinal and decorative plant.

Medicinal plants are a group of vegetable species that concentrate, in some parts, various active substances useful in treating different conditions.

The purpose of this thesis is to draw a series of directives for the use of essential oils in a real and efficient way without causing harmful side effects, like many concentrated drugs.

Worldwide, it is approximated that over 2000 species of aromatic and medicinal plants are currently used in phytotherapy, of which 300 species are most often used.

Currently, as a result of promoting the benefits of phytotherapy and medicinal plant requirement on the European market, there is a revival of interest in the cultivation of medicinal plants in particular at micro-level in family farms. As regards the destination of the production of medicinal plants, 10-15% is used on the local market, 20-25% on the national market and 60-70% on the international market.

Climate and soil conditions in the western region of the country, Banat, favoured the development of an impressive flora through richness and variability. As regards the number and importance of species of pharmaceutical interest, the Lamiaceae family appears as one of the most important, offering a huge ground for study and research.

Also, the Lamiaceae family is the most important source of aromatic plants that calm down and relax, fortify and stimulate or protects from aggressions with specific effects related to a particular organ, apparatus, or system. Last but not least, the natural antibacterial, antioxidant, and antimicrobial proven effects of the active principles of medicinal plants belonging to the Lamiaceae family recommend it as viable alternatives to synthesis products in different disease therapy. The use of phyto-chemicals does not have side effects, but leads to similar therapeutic effects and can be used for a long time.

The study of the chemical composition in correlation with pedoclimatic conditions and the antifungal capacity of volatile oil in the cultivated vegetal material was also considered.

Monarda didyma L. acts as a light anthelmintic and, unlike other anthelmintics (santonin wormwood, scarring wormwood or synthetic preparations) do not cause poisoning during overdose. An important feature of *Monarda didyma* L. is the stimulation of cardiac activity and the ability to eliminate cardiac neurosis due to the content in leaves and flavonoids and vitamin C.

Anthocyanins have a diuretic effect, and they also strengthen the walls of the capillaries and dilate the coronary heart vessels.

Yalta Institute of Research in Physical Methods of Treatment and Experienced Medical Climatology received a copyright certificate for the use (EOM) of *Monarda didyma* L. as a radioprotective agent for the treatment of bronchial asthma, chronic bronchitis and tracheitis as a means of facilitating the grafting of foreign tissue, and as blood preservative.

The presence of flavonoid substances with a strong antiseptic and anti-inflammatory effect in essential oil explains its effectiveness against the various pathogens (bacteria, mushrooms, protozoa, etc.).

Although a fairly wide range of immunomodulators is available as an application in this EM volatile, including *Monarda didyma* L., it seems justified by the inherent soft effect as immunomodulator being sustained and the almost complete absence of side reactions used in the low (natural) concentration interval.

There is evidence that by saturating the environment of an isolated room with natural doses of EM volatile fractions, a decrease in the level of air microflora and atmospheric condensate was observed. Nicholas et al. (1988) found that *Monarda didyma* L., lavender and other plants essential oils influence the functional activity of T lymphocytes T. Cardiac EM activates the function of thymus and spleen with their incomplete incidental involution that causes immunodeficiency in broiler chickens.

A particular interest is the use of *Monarda didyma* L. EM for the treatment of bronchopulmonary diseases. Results obtained at Adygeya State University and Tomsk Medical Institute, the results showed antimicrobial properties raised by *Monarda didyma* L. EM and the possibility of using it for airflows in classes, cinema halls, medical offices, children and other public spaces, especially during flu outbreaks and other colds. It was effective against the simplest pathogens – *Trichina*, *Amoeba*. *Monarda didyma* L. normalizes the dysfunction cycle in young women, being contraindicated during pregnancy.

Monarda didyma L. is very promising as a source of active antifungal substances against representatives of three kinds of fungi (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*), which can generate mycotoxins and poison in foods, as well as against pathogens that cause fungal diseases, in particular *Trichophyton mentagrophytes*, causing Zoster herpes in humans and worms in animals.

The *Monarda didyma* L. essential oil is used to treat burns, eczema, hair loss. For treatment, one can take pure essential oils as well as infusion, leaf and inflorescence juice. Baths also contribute to wound, ulcer, eczema wounds and helps in acne, seborrhoea, and skin peeling.

Monarda didyma L. proved to be promising in creating special leisure areas in hospitals, clinics and kindergartens.

A significant improvement in the indoor air environment can be achieved by using plant species for their "greening", whose volatile emissions have pronounced properties of phytoncide. In this respect, it is recommended to use phytoncide plants in rooms for environmental improvement. Already at a concentration of 5 mg/m³, volatile emissions can change and improve the environment. *Monarda didyma* L. EM reduced air contamination by staphylococcus, streptococcus, diphtheria and pertussis 10 times.

The effect of essential monarch oil on metabolic processes, cell division speed and cytoplasmic membrane state has also been studied. EM of the cardiovascular system reduces the intensity of DNA synthesis, while the permeability of lymphocyte membranes decreases.

The number of viable lymphocytes is not reduced. When essential oil is added to fibroblast culture, 0.5% emulsion leads to their death and 0.005-0.0005% stimulates the growth and division of these cells.

Chapter 2. Common aspects of medicinal and aromatic plants cultivation

2.1. Zoning

By zoning crops we understand the determination of areas favourable to cultures, relying on the natural conditions of the respective area with the biological requirements of the cultivated species. It is executed with a high degree of difficulty, compared to the plant groups commonly encountered in cultures, because, for the plants, the most important factor is not the amount of vegetable mass: the contents in active principles must be pursued in these plants. There are often soil areas where the amount of plant matter is stimulated at the expense of the content of active principles.

2.2. Climate and soils

Due to the variety of soils and climate, the flora is very diverse in our country. Finding optimal conditions for growth and plant development are found by researching biological requirements from soils, humidity, temperature and amount of light. Thermal constant is the total amount of a plant needs for the entire vegetal cycle. The vast majority of aromatic and medicinal plants have this value between 900 and 2200°C. The degree of exigency about soil refers mainly to soil structure and texture: plants having small seeds need, in the early stages of development, a good ratio between air, water and nutrients.

2.3. Cultivation technology

Determining the cultivation technology for aromatic and medicinal plants is done by analysing the species and the type of culture (annual, biennial, perennial), the harvested part of the plant (herba, leaves, roots, flowers, etc.) and the culture area (in wide organic plasticity species).

2.4. *Monarda didyma* L. – description

The monarch is among the herbaceous plants whose healing properties were known in Antiquity. The flower is often used as a medicine as well as added to food as spice. *Monarda didyma* L. was introduced in our country in the 19th century and for a long time had a decorative purpose. Today, the plant is widely used to treat different disorders, to strengthen the immune system and to solve cosmetic problems. Let's get familiar with a useful plant. Original from North America, this plant was brought to Europe by Spanish sailors after the new discoveries by Columbus. Spreading across the continent, including our country is due to the flavour and appearance. The main utility of these flowers is obtaining essential oils.

2.5. The chemical composition of the *Monarda didyma* L. essential oil

The plant contains biologically active compounds and auxiliary components. Bioactive elements are turpentes – substances in the essential oil composition. Also, in the *Monarda didyma* L. composition are included amino acids, bitter substances (bitterness), flavonoids, tannins, cellulose, pectins, timol, and carvacrol.

II. Own research

Chapter 3. The main objective of the research was the cultivation of *Monarda didyma* L. under the pedoclimatic conditions of the experimental didactic station in Timișoara, obtaining the essential oil and carrying out a study on the evaluation of the antifungal activity of the volatile oil obtained from *Monarda didyma* L. on two types of fungi: *Aspergillus flavus* and *Botrytis cinerea*. The study was conducted between 2018-2020.

Following an agrochemical study by OSPA Timișoara, the pedological characterization elements of the experimental didactic station of BUASVM Timișoara. The land of the experimental field was located in the eastern part of Timișoara and within the commune of Ghiroda and belongs to the experimental didactic station of our university. Within the experimental didactic station of BUASVM Timișoara, on an area of 8.59 ha, there are two types of soil: eutricambosol and vertosol.

This type of soil has a high content in total nitrogen (0.14-0.18%), phosphorus content is medium and small (5-20 ppm), and potassium content is high and very high (> 200 ppm). In conclusion, it is appreciated that,

in this area, the climate and agro-pedological factors corresponding to the cultivation requirements of the monarch. The area researched from a climate perspective (the Banat Plain) falls into the moderate continental climate type, at the interference between the climatic province with oceanic influences, and the climatic province with Mediterranean influences. The studied territory falls into the moderate temperate climate area with oceanic and sub-Mediterranean influences. The mean multiannual air temperature is 10.9°C, specific to this type of climate.

The entire area of interest falls with the multiannual medium isotherms of 1° C and 11°C. During the year, the average air temperature presents seasonal oscillations, differentiating the cold season and the warm one. Most of the locality has a precipitation regimen specific to the plains of values between 550 and 650 mm. The amount of multi-annual average precipitation that falls annually on the territory of the locality is about 590 mm precipitation.

Chapter 4. Research results on the biometric measurements of *Monarda didyma* L. culture in the experimental field at the experimental didactic station in Timisoara during 2018-2020

In this study for the determination of plant yield, biometric measurements have been performed on the plants studied with the following elements: plant height and bush diameter (cm); weight of full green plant (g) and dry plant (G), making the average of the results.

Chapter 5. Obtaining essential oil from *Monarda didyma* L. The first stage of the laboratory study was the presentation of the method of extraction of volatile oil from *Monarda didyma* L.

Also, the production results (yield) of fresh and dry herba obtained from *Monarda didyma* L. and the amount of essential oil during the experimental period 2018-2020 are presented.

Chapter 6. Analysis of the chemical composition of essential oil from *Monarda didyma* L., green and dry material, herba and inflorescences, presentation of main compounds and synthesis over three experimental years. Determination of the compositional profile of the essential oil and description of the chromatographic method.

Chapter 7. Assessment of antifungal action of the essential oil from *Monarda didyma* L. obtained in the 2018-2020 experimental cycle. The present study aims to determine the antifungal activity of volatile oil tested on two fungal species: *Botrytis cinerea* and *Aspergillus flavus*. Volatile oil from *Monarda didyma* L. inhibits the development of *Aspergillus flavus* at a 0.3% concentration; it also inhibits the development of *Botrytis cinerea* at a 0.2% concentration.

Author's own contributions

The researches carried out involved a thorough study of literature in order to expand in culture *Monarda didyma* L., a medicinal plant of interest in this part of Romania.

The species was used to obtain essential oil grown and monitored by biometric measurements throughout the vegetation period. Also, climate and soil factors have also been monitored that may influence the compositional profile of the essential oil obtained. After obtaining the essential oil, the chemical composition and main chemical compounds were determined by chromatographic analysis.

For essential oil, a thorough study was conducted on antifungal activity on two species of fungi: *Botrytis cinerea* and *Aspergillus flavus*.

IV. ELEMENTS OF ORIGINALITY

Research in this thesis are original studies due to several aspects:

- Studying a less known medicinal species in the western area of Romania so far and with the prospect of expansion in culture in the future;
- The development of thorough biometric measurements for determining the optimal harvesting moment and the determination of herba production, i.e., green and dry inflorescences, but also of essential oil yield;
- Determination of the main essential oil compounds obtained from *Monarda didyma* L. cultivated under the influence of the pedoclimatic conditions specific to the micro zone at the experimental didactic station in Timisoara;
- Making thorough oil analyses of essential oil from the perspective of the compositional chemical profile of the *Monarda didyma* L. essential oil with the antifungal potential;
- Evaluation and determination of essential oil concentration that inhibits the development of the mycelium of the two fungi: *Botrytis cinerea* and *Aspergillus flavus*;
- The results of the researches obtained allow us for the recommendation of the inclusion of the essential oil of DIDYMA in organic products with antifungal action.

Bibliography

The bibliography comprises 162 bibliographic titles.

A. INTRODUCERE

Motivația alegerii temei de cercetare

Tema tezei de doctorat cu titlul „*Studiu privind activitatea antifungică a uleiului esențial de Monarda didyma cultivată la SDE Timișoara*” abordează studiul particularităților agrobiologice și de cultivare a speciei *Monarda didyma* L., având ca obiectiv obținerea de biocompuși activi cu acțiune antifungică utilizați în protecția produselor agroalimentare ecologice.

Studiul urmează direcția de cercetare științifică privind combaterea fungilor pentru reducerea pierderilor cauzate de agenții patogeni din materialul vegetal.

De asemenea, preocuparea pentru calitatea produselor primare de origine vegetală este tot mai accentuată în zilele noastre. Evitarea utilizării compușilor chimici prin tratamente fitosanitare este principala modalitate de asigurare a unor produse necontaminate cu reziduuri de pesticide. În acest scop se caută soluții alternative care să asigure o protecție a culturilor și a recoltelor ecologice. Alături de alți fitocompuși, uleiurile esențiale sunt printre cele mai promițătoare soluții pentru înlocuirea substanțelor chimice sintetice antifungice folosite în prezent.

Importanța și actualitatea temei

Dintre speciile de plante aparținând familiei *Lamiaceae* mai puțin studiate în țara noastră, se numără și specia *Monarda didyma* L., originară din America de Nord, răspândită la ora actuală în Europa și Asia. Cercetările întreprinse de noi au avut ca obiectiv principal cunoașterea agrobiologiei speciei *Monarda didyma* L., în vederea extinderii în cultură, în vestul țării. Partea de Vest a țării noastre asigură condiții de climă și sol favorabile cultivării speciei *Monarda*, chiar și în ani diferiți din punct de vedere climatic. Rezultatele obținute au evidențiat gradul de adaptabilitate a culturii de *Monarda didyma* L., pretându-se cel mai bine spre a fi cultivată în Câmpia de Vest. În cadrul temei de cercetare un alt obiectiv a fost analiza compoziției chimice a uleiului esențial de *Monarda* pentru a evidenția compușii majoritari cu acțiune antifungică. Studiul principal al acestei lucrări este determinarea în laborator a potențialului antifungic al uleiului esențial extras din cultura de *Monarda didyma* L. asupra fungilor *Aspergillus flavus* și *Botrytis cinerea*.

Prezentarea pe scurt a conținutului. Această lucrare este structurată în două părți.

În *prima parte* a tezei, în două capitole sunt prezentate date preluate din literatura de specialitate cu privire la aspecte generale privind utilizarea, istoricul plantelor aromatice și acțiunea principiilor active din plante aparținând familiei *Lamiaceae* și elemente specifice cultivării plantelor aromatice (zonare, climatul și solurile, tehnologia de cultivare).

Capitolul al doilea prezintă considerații generale privind specia *Monarda didyma* (descriere, compoziția chimică a uleiului esențial și tehnologia de cultură).

În *partea a doua* sunt prezentate cercetările proprii cu referire la comportarea speciei *Monarda didyma* cultivată în condițiile pedoclimatice de la Stațiunea Didactică Experimentală a USAMVBT, urmând elementele din tehnologie, de la plantat până la recoltare.

În laboratorul din cadrul disciplinei de Plante medicinale și aromatice, s-a realizat: condiționarea materialului vegetal, măsurătorile biometrice, extracția, analiza calitativă și cantitativă a uleiului esențial. În ceea ce privește uleiurile esențiale obținute din cultură, au fost analizate sub aspectul compoziției chimice, al efectului biologic și capacității antifungice asupra fungilor *Aspergillus flavus* și *Botrytis cinerea* în laboratorul de Microbiologie.

Gradul de încadrarea temei în preocupările internaționale, naționale, regionale, ale colectivului de cercetare.

Uleiul esențial obținut din herba și inflorescențe este utilizat în cosmetologie, deoarece accelerează procesul de regenerare la nivel celular. Genul *Monarda* este o sursă de substanțe antifungice active, împotriva celor două genuri de fungi (*Aspergillus*, *Botrytis*) precum și împotriva agenților patogeni care pot provoca boli fungice.

Uleiul esențial de *Monarda* este considerat cel mai valoros deoarece este utilizat în medicină, pentru a trata arsurile, eczeme, căderea părului, acneei și normalizați activitatea glandelor sebacee, sub formă de infuzie, suc din frunze și inflorescențe cât și în parfumerie. Părțile aeriene ale plantei (herba) conțin până la 3% ulei esențial (EM), totuși se concentrează cea mai mare parte în principal în frunze și inflorescențe, iar tulpini conțin o cantitate mai mică, doar de 0,06-0,08%.

Principiile active din frunze și tulpini au un puternic efect bactericid, iar uleiul contribuie la distrugerea microorganismelor dăunătoare, a ciupercilor, a virușilor și chiar a micoplasmei.

Principiile active conțin un compus din care face parte și timina analgezică naturală, caracterizată printr-o proprietate antiseptică excelentă. De asemenea, vitaminele, retinoizii și antioxidanții care intră în compoziția chimică a produsului principal utilizat au proprietăți antifungice, hemostatice, regenerative și imunostimulatoare asupra organismului.

În scopuri terapeutice compușii bioactivi obținuți din monarda conțin cel mai valoros agent bactericid cu un spectru larg de acțiune. Proprietățile terapeutice ale uleiului esențial contribuie la ameliorarea spasmelor, la reducerea inflamației, la eliminarea toxinelor din organism, la întărirea sistemului imunitar și la combaterea răcelilor.

Obiectivele științifice propuse pentru rezolvare în cadrul cercetării științifice.

Scopul cercetărilor a fost evaluarea potențialului antifungic al uleiului esențial obținut din specia *Monarda didyma* sub influența factorilor climatici de la Stațiunea Didactică Experimentală a USAMVBT.

Obiectivele cercetărilor au urmat trei direcții:

- cultivarea și monitorizarea comportării culturii de Monarda didyma privind particularitățile agrobiologice a speciei și interacțiunea cu factorii de mediu;
- obținerea și analiza compoziției chimice a uleiului esențial;
- elaborarea unui studiu privind evaluarea acțiunii antifungice a uleiurilor volatile obținute din *Monarda didyma* asupra fungilor *Aspergillus flavus* și *Botrytis cinerea*

Comentarii sintetice privind noutatea/gradul de inovare a metodei/metodologiei de cercetare. Noutatea studiilor constă în: (I) investigarea speciei *Monarda didyma* cultivată în condițiile pedoclimatice de la SDE Timișoara cu scopul cunoașterii și a extinderii în structura de culturi medicinale și aromatice (II) obținerea uleiului esențial din specia *Monarda didyma* cultivată în câmpul experimental propriu, (III) determinarea compoziției chimice a uleiului esențial și efectuarea unui număr mare de măsurători biometrice pentru stabilirea potențialului de biomasă vegetală sub influența factorilor climatici (IV) evaluarea capacității antifungice a uleiului esențial asupra fungilor *Aspergillus flavus* și *Botrytis cinerea*.

INTRODUCTION

Motivation of research topic choice

The topic of the PhD thesis “Study on the antifungal activity of *Monarda didyma* L. essential oil cultivated at the Didactic Experimental Station in Timisoara” addresses the study of the agrobiological and cultivation features of *Monarda didyma* L. aiming at obtaining active bio-compounds with antifungal action used in the protection of ecological agri-food products.

The study follows the scientific research direction of controlling fungi to reduce losses caused by pathogens in vegetable material.

Also, the concern for the quality of primary products of plant origin is increasingly pronounced nowadays. Avoiding the use of chemical compounds by phytosanitary treatments is the main way to ensure products uncontaminated with pesticide residues. For this purpose, alternative solutions are being sought to provide protection for organic crops. Along with other phyto-compounds, essential oils are among the most promising solutions for replacing the synthetic antifungal chemicals currently used.

The importance and timeliness of the topic

Monarda didyma L., originating in North America, now spread in Europe and Asia, is among the plant species belonging to the Lamiaceae family less studied in our country. The research undertaken aimed mainly at knowing the agrobiology of *Monarda didyma* L. in order to expand it in culture in Western Romania. The western part of our country provides climate and soil favourable to the cultivation of the *Monarda didyma* L., even in years with different climates. Results have highlighted the adaptability of *Monarda didyma* L. culture as best suited to be cultivated in the Western Plain. Another objective of the research was the analysis of the chemical composition of the *Monarda didyma* L. essential oil to highlight the main antifungal action compounds. The main study goal of this thesis was determining, in the laboratory, the antifungal potential of the oil extracted from the *Monarda didyma* L. culture on *Aspergillus flavus* and *Botrytis cinerea* fungi.

Short presentation of the contents. This thesis is structured in two parts.

In the first part of the thesis, data from literature regarding such general aspects as the use, the history of aromatic plants and the action of the active principles of the plants belonging to the Lamiaceae family, as well as the elements specific to the cultivation of aromatic plants (zoning, climate and soils, cultivation technology) are presented.

The second chapter presents a general overview of *Monarda didyma* L. (description, chemical composition of essential oil and cultivation technology).

In the *second part* of the research are presented our own research with reference to the behaviour of *Monarda didyma* L. cultivated under the soil and climate conditions at the Didactic Experimental Station of the B.U.A.S.V.M.T., following the technology elements from planting to harvest.

In the laboratory of the discipline of Medicinal and Aromatic Plants, the following were achieved: conditioning of vegetable material, biometric measurements, extraction, and qualitative and quantitative analysis of essential oil. As regards essential oils obtained from the crop, they were analysed in terms of chemical composition, biological effect and antifungal effect on *Aspergillus flavus* and *Botrytis cinerea* fungi in the microbiology laboratory.

The degree of topic matching the international, national, regional, research team concerns

Essential oil from herba and inflorescences is used in cosmetology because it accelerates the cellular regeneration process. *Monarda didyma* L. is a source of active antifungal substances that control two genera of fungi (*Aspergillus*, *Botrytis*) as well as pathogens that can cause fungal diseases.

The essential oil of *Monarda didyma* L. is considered the most valuable because it is used in medicine to treat burns, eczema, hair loss, acne, to normalize the activity of sebaceous glands in the form of infusion, leaf juice and inflorescences, and in perfumery. The aerial parts of the plant (herba) contain up to 3% essential oil (EM), however, the highest concentration is mainly in leaves and inflorescences, and stems contain a smaller amount of only 0.06-0.08%.

Active principles in leaves and stems have a strong bactericidal effect, and oil contributes to the destruction of harmful microorganisms, fungi, viruses and even mycoplasma.

Active principles contain compounds among which natural analgesic thymine is characterized by an excellent antiseptic property. Also, vitamins, retinoids and antioxidants that contain the chemical composition of the main product used have antifungal, haemostatic, regenerative and immunostimulatory properties on the human body.

For therapeutic purposes, the bioactive compounds obtained from *Monarda didyma* L. contain the most valuable bactericidal agent with a broad spectrum of action. The therapeutic properties of the essential oil contribute to improving spasms, reducing inflammation, eliminating toxins from the body, strengthening the immune system and combatting colds.

Scientific objectives proposed for solving in scientific research

The **goal** of the research was the assessment of the antifungal potential of the essential oil obtained from the *Monarda didyma* L. under the influence of climate factors at the Didactic Experimental Station of the B.U.A.S.V.M.T.

Research objectives followed three directions:

- Cultivation and monitoring of the behaviour of *Monarda didyma* L. on the agrobiological particularities of the species and interaction with environmental factors;
- Obtaining and analysing the chemical composition of *Monarda didyma* L. essential oil;
- Elaboration of a study on the assessment of antifungal action of volatile oils obtained from *Monarda didyma* L. on *Aspergillus flavus* and *Botrytis cinerea* fungi.

Synthetic comments on the novelty / degree of innovation of the research method / methodology

The novelty of the studies consists in: (i) investigating the *Monarda didyma* L. cultivated under the soil and climate conditions of the Didactic Experimental Station in Timisoara for the purpose of knowledge and extension in the structure of medicinal and aromatic cultures (ii) obtaining essential oil from *Monarda didyma* L. cultivated in our own experimental field (iii) determining the chemical composition of the essential oil and performing a large number of biometric measurements to establish the potential of vegetable biomass under the influence of climate factors (iv) assessing the antifungal capacity of *Monarda didyma* L. essential oil on *Aspergillus flavus* and *Botrytis cinerea* fungi.
