

ANALIZA BIOCHIMICĂ A PLANTELOR DE *ORIGANUM VULGARE* SSP. *VULGARE* DIN FLORA SPONTANĂ A REPUBLICII MOLDOVA**Port Angela¹, Mutu Ana¹, Duca Maria¹, Gille Elvira²***1 – Universitatea de Stat „Dimitrie Cantemir”**2 – Centrul de Cercetări Biologice „Stejarul”, Piatra Neamț, România***Rezumat**

Studiul biochimic al extractelor vegetale de *O. vulgare* ssp. *vulgare* a demonstrat că în fracția compușilor polifenolici predomină acizii polifenolcarboxilici (70%), *acidul rozmarinic* fiind component majoritar. Bioacumularea flavonoidelor variază la nivel intrapopulațional (10-40%) și corelează cu gradientul altitudinal și direcția de expoziție a versantului Butuceni de pe care au fost colectate plantele. Analiza uleiului volatil prin GC-SM a evidențiat cantități mai mari ale sesquiterpenelor față de cele ale monoterpenelor. Din 38 de compuși identificați, 20 sunt monoterpene, 15 sesquiterpene și 3 componenți minoritari (cu valori mai mici de 1%) *dihidro-edulan I*, *3-octanonă* și *3-octanol*. Analiza componentelor principale a relevat 9 compuși: *β-cariofilen*, *oxid de cariofilen*, *sabinen*, *germacren D*, *cis-β-ocimen*, *τ-gurjunen*, *β-bisabolen*, *γ-terpinen*, *p-cimen* ce caracterizează valoarea aromatică a uleiului volatil, reprezentând o chemovarietate a plantelor de *O. vulgare* ssp. *vulgare* din flora spontană a Republicii Moldova (rezervația Orheiul Vechi).

Cuvinte cheie: *Origanum vulgare* ssp. *vulgare*, flora spontană, diversitate biochimică, metabolism secundar, compuși polifenolici, terpeni.

Depus la redacție 14 martie 2020

Adresa pentru corespondență: Port Angela, Universitatea de Stat „Dimitrie Cantemir”, str. Academiei, 3/2, MD-2028 Chișinău, Republica Moldova. E-mail: portang@yahoo.com

Introducere

Origanum vulgare L. este o specie de plante medicinale și aromatice (PMA) din genul *Origanum* L. (familia *Lamiaceae*). În flora spontană a Republicii Moldova se întâlnește subspecia *vulgare* și numeroase varietăți ale acesteia în dependență de arealul geografic și condițiile climaterice [17].

Plantele de *O. vulgare* se caracterizează prin concentrații înalte de uleiuri volatile, care sunt obținute prin hidrodistilare din flori, frunze, rădăcini, semințe etc. Compoziția chimică calitativă și cantitativă a uleiului este variabilă, fiind identificate diferite chemotipuri de monoterpene și sesquiterpene în calitate de compuși dominanți [22].

Interesul științific și comercial pentru compoziția uleiului volatil de *O. vulgare* este determinat în cea mai mare parte de conținutul și tipul compușilor terpenici [13]. Cel mai răspândit chemotip, care are la bază compuși monoterpenici și o aromă specifică utilizată în industria alimentară, este cel al speciilor *O. dubium*, *O. onites* [22] și *O. syriacum* [12]. Pentru specia *O. vulgare* sunt caracteristice monoterpenele fenolice din care derivă ulterior *timolul* și *carvacrolul* [22].

Factorii care determină compoziția și cantitatea uleiului volatil sunt numeroși și interdependenți, fiind dificil de diferențiat între ei. Adicional la componentele genetice, sunt variațiile sezoniere, de maturare, originea geografică și fazele de creștere ale plantei. De asemenea, o pondere mare în variabilitatea profilului metaboliților secundari revine condițiilor de creștere (structura și compoziția solului etc.), care în asociere cu condițiile

de mediu induc multiple reacții ale răspunsului de adaptare a plantei, determinate de capacitatea de autoreglare a concentrației metaboliților moleculari [5, 10, 13]. Este important de menționat faptul că deși unii metaboliți secundari, precum terpenele și derivații acestora, nu îndeplinesc funcții primare, similar altor compuși, de exemplu în fotosinteză (carotenoizi, clorofile, plastochinone), respirație (ubichinona), creștere și dezvoltare (citochinine, gibereline, brasinosteroizi), modificarea metabolismului specific în scopul obținerii anumitor chemotipuri valoroase economic, deseori afectează potențialul de rezistență fiziologică a plantei [22, 24, 26].

Informații cu privire la compoziția chimică a uleiului volatil a plantelor din habitatul natural autohton, sunt fragmentare, spre deosebire de alte țări, în care plantele de *O. vulgare* L. indigene sunt pe larg explorate științific și economic [2, 15, 25].

Germoplasma locală de *O. vulgare* ssp. *vulgare*, formată în condiții ecologice specifice regiunii (cantități reduse de precipitații, alternate cu perioade îndelungate de secetă, temperaturi scăzute, habitate la altitudini mici) poate reprezenta o sursă de fenotipuri și chemotipuri cu potențial ameliorativ. Anterior a fost stabilit un grad înalt de variabilitate molecular-genetică a plantelor din 7 subpopulații de *O. vulgare* din habitatul natural (rezervația Orheiul Vechi) la nivelul unor secvențe microsatelit din regiunile de codificare a genelor active în celulele secretoare a perilor glandulari cu funcție de producere și depozitare a metaboliților secundari [20], fapt care sugerează asupra heterogenității fenotipului biochimic.

În contextul celor expuse, prezentul articol este consacrat cercetării variabilității biochimice a extractelor vegetale de *O. vulgare* din flora spontană a Republicii Moldova (rezervația Orheiul Vechi) în scopul identificării profilurilor fitochimice valoroase – potențiale surse autohtone de ulei esențial și extracte vegetale bogate în principii bioactive.

Material și metode

Materialul de cercetare a inclus 7 subpopulații de *O. vulgare* ssp. *vulgare* din rezervația cultural-naturală Orheiul Vechi (Or1-Or7), caracterizate prin particularități fenotipice și morfologice specifice [3]. Prelevarea plantelor din flora spontană s-a efectuat în perioada înfloririi, când 90% din ramurile axiale erau înflorite [1, 4, 21]. Probele de uleiul volatil pentru analizele biochimice au fost obținute din 100 g de material uscat (părți aeriene) în conformitate cu recomandările Farmacopeei Române ediția a X-a și Agenția Europeană a Medicamentului.

Analiza biochimică a metaboliților secundari din extractele vegetale și uleiul volatil s-a efectuat în Laboratorul Biologie vegetală și experimentală, Centrul de Cercetări Biologice „Stejarul”, Piatra Neamț, România prin *cromatografia în fază lichidă de înaltă performanță* (HPLC), *spectrofotometrie* și *gaz-cromatografie cuplată cu spectroscopie de masă* (GC-MS).

Analiza cantitativă a compușilor polifenolici a fost realizată la spectrofotometrul UV/Vis de model Jenway 6300 conform metodelor standard. Compoziția chimică a uleiului volatil a fost stabilită prin analiza GC-MS la cromatografului de gaze Agilent Technologies 1200, prevăzut cu o coloană de fază inversă Eclipse XDB-C18 (150 mm x 4,6 mm; 5 μm) și detector UV-Vis cu multidiode [16].

Prelucrarea statistică și interpretarea datelor s-a realizat prin metode de statistică descriptivă, comparativă (ANOVA, testul *Bonferroni*) [14] și analiză multivariată (*Analiza Componentelor Principale* – ACP) [9].

Rezultate și discuții

Conținutul metaboliților secundari în extractele vegetale de *O. vulgare* ssp. *vulgare*. Analiza spectrofotometrică a extractelor vegetale a rezultat în date cantitative ale conținutului total al polifenolilor, acizilor polifenolcarboxilici și flavonoidelor (g/100 g s.u. – substanță uscată). Astfel, conținutul polifenolilor totali (g echivalenți *acid galic*/100 g s.u.) variază între cca 3-5 g.

În plantele din subpopulațiile Or1 și Or6 s-a constatat conținutul în polifenoli totali cel mai mare, iar în cele din Or3, Or4 și Or7 valori de 2,99-3,72 g, cu 25-40% mai mici (fig. 1).

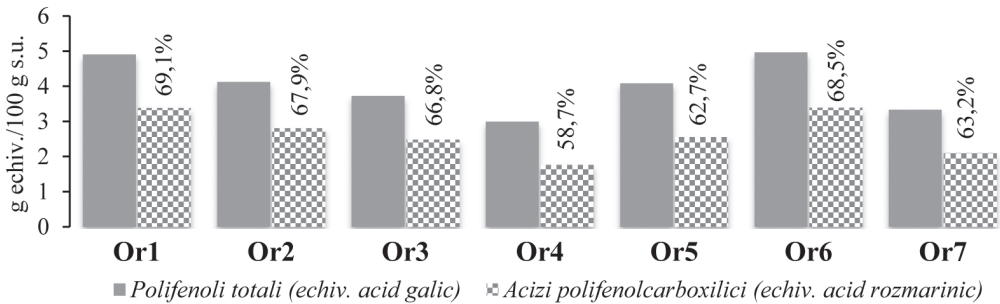


Figura 1. Ponderea procentuală a acizilor polifenolcarboxilici în conținutul de polifenoli totali în extractele de *O. vulgare* ssp. *vulgare* (polifenoli totali – 100%).

Cuantificarea acizilor polifenolcarboxilici (g echivalenți *acid rozmarinic*/100 g s.u.) a relevat valori maxime (3,40 g) la Or1 și Or6 și cu 18-47% mai mici la subpopulațiile Or2, Or4 și Or7 (1,76-2,80 g). Ponderea acestor compuși în conținutul total al polifenolilor constituie 63-69%, cea mai mică valoare fiind observată la subpopulația Or4 (58,70%).

Nivelul bioacumulării flavonoidelor prezintă diferențe cantitative (10-40%) între cele 7 subpopulații.

Studiul fracțiilor prin HPLC a pus în evidență *acidul rozmarinic* – component majoritar cu valori maxime la Or6 (1678,14±6,27 mg/100 g s.u.) și minime la Or4 (431,06±4,37 mg/100 g s.u.) (tab. 1). În baza conținutului *acidului rozmarinic* s-a conturat următorul clasament al subpopulațiilor: Or4<Or7<Or5<Or3<Or2<Or1<Or6.

Spre deosebire de *acidul rozmarinic*, ceilalți compuși au fost identificați în cantități de: 15,15-20,76 mg/100 g s.u. în cazul *acidului cafeic*; 1,65-5,12 mg/100 g s.u. pentru *acidul clorogenic* și de 1,20-1,88 mg/100 g s.u. – *acidul p-cumaric*. Aceste cantități sunt considerabil mai mici față de valoarea medie a conținutului *acidului rozmarinic* (961,20 mg/100 g s.u.) de 64, 275 și 640 de ori în cazul *acidului cafeic*, *clorogenic* și *acidului p-cumaric*.

Diferența foarte mare în conținutul de substanțe polifenolice și flavonoide poate fi determinată de condițiile climaterice în perioada înfloririi, de exemplu umiditate ridicată și zile puțin însorite. Se cunoaște că flavonoidele în plante variază în funcție de durata și intensitatea luminii solare, având un rol în protecția țesuturilor față de radiațiile ultraviolete. Atunci când planta nu necesită cantități sporite de substanțe flavonoide cresc acumulările de acizi polifenolcarboxilici, care au la bază aceiași precursori biogenetici [8].

Tabelul 1. Conținutul în polifenoli și flavonoide determinat prin HPLC (mg/100 g s.u.) la subpopulațiile de *O. vulgare* ssp. *vulgare*.

Subpop.	Acid clorogenic	Acid cafeic	Acid p-cumaric	Acid rozmarinic	Luteolină
Or1	2,51±0,11 ^d	16,67±0,23 ^d	1,88±0,04 ^a	1175,76±9,91 ^b	5,96±0,15 ^a
Or2	2,21±0,21 ^e	18,10±0,24 ^e	1,66±0,10 ^b	1003,90±4,74 ^c	3,67±0,06 ^c
Or3	2,67±0,06 ^d	14,90±0,27 ^e	1,50±0,17 ^c	992,64±2,40 ^d	3,09±0,23 ^d
Or4	5,12±0,21 ^a	18,86±0,14 ^b	1,20±0,12 ^d	431,06±4,37 ^g	2,33±0,10 ^e
Or5	4,36±0,14 ^b	15,15±0,07 ^e	1,60±0,09 ^{b,c}	875,94±9,01 ^e	5,29±0,01 ^b
Or6	1,65±0,11 ^f	16,92±0,13 ^d	1,06±0,05 ^e	1678,14±6,27 ^a	3,13±0,06 ^d
Or7	3,53±0,10 ^c	20,76±0,31 ^a	1,28±0,16 ^d	570,94±4,49 ^f	2,04±0,07 ^f

Notă: datele sunt prezentate sub forma mediei ± eroarea valorii medii (n=3); analiza statistică a fost realizată prin ANOVA, testul *Bonferroni*; prin litere este indicată diferența statistic semnificativă ($p < 0,05$) dintre subpopulații.

Compoziția chimică a uleiului volatil de *O. vulgare* ssp. *vulgare*. Dintr-o 100 g de biomasă uscată a fost extras între 0,8 - 1,0 ml de ulei volatil. Analiza compoziției chimice prin GC-MS a pus în evidență 38 de compuși, dintre care 20 de monoterpene (MT) (tab. 2), 15 sesquiterpene (ST) (tab. 3), un compus (*dihidro-edulan I*) din clasa norisoprenoizilor și 2 compuși (*3-octanonă*, *3-octanol*) alifatici cu valori mai mici de 1%. Numărul total de 38 de compuși se identifică doar în uleiul extras din plantele subpopulațiilor Or2, Or6 și Or7. Unii compuși lipsesc din profilul chimic al plantelor, de exemplu: *α-amorfen* (Or1), *lemonalul* și *geranialul* (Or3, Or4), *isopinocamfon* și *cis-geraniol* (Or5) și *eucaliptolul* (Or3). Astfel, la subpopulația Or3 s-au identificat 35, la Or4 și Or5 – 36 și la Or1 – 37 de compuși.

De menționat, compușii *dihidro-edulan I*, *3-octanonă* și *3-octanol* identificați în materialul analizat cu valori mai mici de 1%, la alte specii, de exemplu *Thymus vulgaris* sunt în cantități mai mari [22].

Procentul total care revine monoterpenele este sub cel al sesquiterpenelor la toate subpopulațiile cu excepția Or5 și Or6, la care ambele grupe de substanțe au același conținut ($p=0,36$; $p=0,77$). Cele mai mari diferențe între aceste 2 clase de compuși (MT/ST) sunt constatate la Or3 (de 73%) și la Or2, Or4, Or7 (23-26%) (fig. 2).

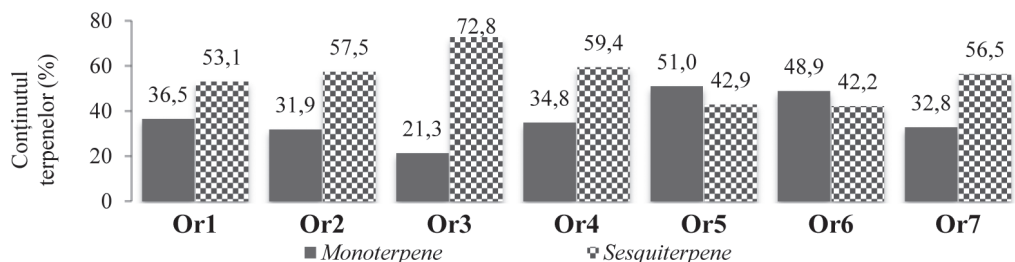


Figura 2. Compușii monoterprenici și sesquiterprenici identificați prin GC-MS.

Din 38 de compuși terpenici 28 au valori mai mari de 1%, cel puțin, în cazul unei singure subpopulații. Dintre aceștia, 17 sunt MT (tab. 2) și 11 ST (tab. 3) prezentând variații în bioacumulări la diferite subpopulații, în concentrația și tipul terpenelor

identificate: Or1 (10 MT; 10 ST), Or2 (7 MT; 9 ST), Or3 (4 MT; 9ST); Or4 (10 MT; 8 ST), Or5 (12 MT; 6 ST), Or6 (15 MT; 8 ST), Or7 (9 MT; 10 ST).

Tabelul 2. Monoterpenele cu un conținut mai mare de 1%.

Terpene	Or1	Or2	Or3	Or4	Or5	Or6	Or7
α-pinen	0,70±0,17 ^{cd}	0,57±0,16 ^d	0,22±0,04 ^e	0,61±0,03 ^d	1,19±0,16 ^a	0,79±0,02 ^{bc}	0,91±0,05 ^b
sabinen	12,37±0,28 ^d	15,04±0,04 ^b	0,65±0,12 ^a	11,93±0,13 ^c	13,51±0,05 ^c	15,31±0,07 ^a	8,04±0,03 ^f
β-pinen	0,84±0,03 ^c	0,35±0,07 ^s	0,77±0,04 ^f	1,49±0,02 ^c	2,63±0,05 ^a	1,00±0,02 ^d	1,72±0,02 ^b
β-mircen	1,00±0,02 ^d	0,96±0,04 ^d	0,74±0,07 ^f	1,27±0,03 ^c	1,54±0,06 ^b	1,64±0,05 ^a	0,87±0,04 ^c
p-cimen	2,13±0,05 ^f	2,96±0,03 ^d	4,97±0,02 ^b	3,42±0,02 ^c	2,06±0,02 ^s	2,60±0,01 ^c	5,35±0,09 ^a
d-limonen	1,33±0,05 ^d	1,07±0,02 ^c	0,45±0,05 ^f	1,37±0,04 ^d	2,66±0,06 ^a	1,77±0,03 ^b	1,58±0,04 ^c
eucaliptol	1,55±0,07 ^d	1,06±0,03 ^f	0 ^s	1,17±0,02 ^c	7,15±0,04 ^a	3,51±0,02 ^c	3,81±0,02 ^b
cis-β-ocimen	5,67±0,03 ^a	2,67±0,02 ^d	2,11±0,02 ^f	2,10±0,03 ^c	5,43±0,02 ^b	2,37±0,10 ^c	2,00±0,04 ^s
trans-β-ocimen	3,51±0,07 ^c	2,27±0,07 ^s	7,77±0,09 ^a	4,77±0,18 ^c	5,57±0,05 ^b	4,59±0,03 ^d	2,74±0,22 ^f
γ-terpinen	1,84±0,08 ^b	0,34±0,09 ^{cd}	1,39±0,05 ^c	2,20±0,03 ^a	1,24±0,12 ^d	0,41±0,07 ^c	0,27±0,08 ^f
linalol	0,40±0,05 ^d	0,72±0,07 ^b	0,35±0,05 ^d	0,54±0,06 ^c	0,83±0,13 ^b	1,18±0,20 ^a	0,35±0,12 ^d
4-terpineol	2,28±0,25 ^b	2,14±0,13 ^{bc}	0,48±0,06 ^f	1,16±0,13 ^c	2,60±0,10 ^a	2,10±0,10 ^c	1,82±0,10 ^d
α-terpineol	1,02±0,11 ^d	0,59±0,14 ^c	0,16±0,24 ^f	0,51±0,05 ^c	3,51±0,08 ^a	1,42±0,15 ^c	1,88±0,23 ^b
lemonal	0,04±0,02 ^b	0,05±0,02 ^b	0 ^b	0 ^b	0,05±0,06 ^b	1,51±0,29 ^a	0,05±0,03 ^b
cis-geraniol	0,04±0,04 ^{cd}	0,08±0,03 ^{bc}	0,07±0,04 ^{bc}	0,13±0,02 ^b	0 ^d	1,34±0,11 ^a	0,13±0,03 ^b
geranial	0,07±0,06 ^{bc}	0,08±0,06 ^{bc}	0 ^c	0 ^c	0,07±0,07 ^{bc}	2,20±0,15 ^a	0,10±0,09 ^b
geranil acetat	0,17±0,05 ^c	0,23±0,13 ^c	0,18±0,09 ^c	0,18±0,12 ^c	0,16±0,09 ^c	4,63±0,56 ^a	0,68±0,14 ^b

Variabilitate intrapopulațională semnificativă prezintă 5 monoterpeni cu cele mai mari valori procentuale: *sabinen* (1-15%), *trans-β-ocimen* (2-8%), *cis-β-ocimen* (2-6%), *p-cimenul* (2-5%), *eucaliptolul* (1-7%). S-a remarcat *4-terpineol* și *α-terpineol* prin valori înalte la Or5 (2,60%, respectiv 3,51%), iar *lemonalul*, *cis-geraniolul*, *geranialul* și *geranil acetatul* la Or6 (1,51%, 1,34%, 2,20% și 4,63% respectiv), cu diferențe statistice semnificative ($p < 0,05$) față de toate subpopulațiile.

Tabelul 3. Sesquiterpenele cu un conținut mai mare de 1%.

Terpene	Or1	Or2	Or3	Or4	Or5	Or6	Or7
β-burbonen	1,13±0,18 ^a	0,94±0,19 ^b	0,89±0,10 ^{bc}	0,91±0,08 ^{bc}	0,77±0,11 ^c	0,91±0,11 ^{bc}	1,01±0,19 ^{ab}
β-cariofilen	14,53±0,26 ^f	20,97±0,16 ^b	33,02±0,19 ^a	19,70±0,22 ^c	14,82±0,08 ^c	13,56±0,15 ^e	17,44±0,17 ^d
α-cariofilen	3,09±0,11 ^c	4,25±0,09 ^b	6,56±0,12 ^a	3,95±0,15 ^c	3,07±0,12 ^c	2,83±0,25 ^f	3,69±0,09 ^d
germacren D	16,06±0,13 ^b	11,45±0,12 ^f	12,38±0,28 ^d	16,83±0,17 ^a	12,74±0,17 ^c	9,45±0,11 ^e	12,05±0,11 ^c
τ-gurjunen	3,70±0,11 ^b	3,01±0,03 ^c	3,73±0,11 ^b	4,25±0,08 ^a	3,12±0,13 ^c	2,58±0,17 ^d	1,69±0,16 ^c
β-bisabolen	2,63±0,06 ^c	1,60±0,02 ^b	1,08±0,13 ^c	1,52±0,07 ^b	0,81±0,015 ^d	0,25±0,09 ^c	0,27±0,05 ^c
elemol	1,40±0,05 ^a	0,67±0,09 ^c	0,28±0,04 ^c	0,14±0,04 ^a	0,04±0,02 ^f	0,52±0,06 ^d	1,02±0,03 ^b
spatulenol	1,36±0,10 ^f	2,11±0,13 ^a	1,94±0,12 ^b	2,23±0,06 ^a	1,12±0,14 ^d	1,36±0,10 ^f	1,09±0,01 ^d
oxid de cariofilen	4,47±0,17 ^f	6,67±0,12 ^c	7,84±0,13 ^b	4,88±0,21 ^c	3,38±0,09 ^s	6,22±0,05 ^d	12,00±0,03 ^a
τ-murolool	0,37±0,08 ^f	1,36±0,10 ^c	1,42±0,21 ^{bc}	0,91±0,04 ^d	0,67±0,12 ^c	1,50±0,07 ^b	2,08±0,04 ^a
α-cadinol	2,57±0,03 ^a	2,50±0,06 ^a	1,54±0,11 ^d	1,67±0,12 ^c	0,98±0,05 ^f	1,35±0,07 ^c	2,02±0,06 ^b

Notă: datele sunt prezentate sub forma mediei ± eroarea valorii medii (n=3); analiza statistică a fost realizată prin ANOVA, testul *Bonferroni*; prin litere este indicată diferența statistic semnificativă ($p < 0,05$) dintre subpopulații.

În cazul sesquiterpenelor principalii constituenți ai uleiului volatil din probele analizate sunt: β -cariofilen (14-33%) germacren D (3-17%), oxid de cariofilen (3-12%), α -cariofilen (3-7%), τ -gurjunen (2-4%). Aceste variații cantitative sunt reflectate elocvent în reprezentarea grafică a 7 amprente cromatografice (compuși în concentrații $\geq 2\%$) ale uleiului volatil studiat (fig. 3).

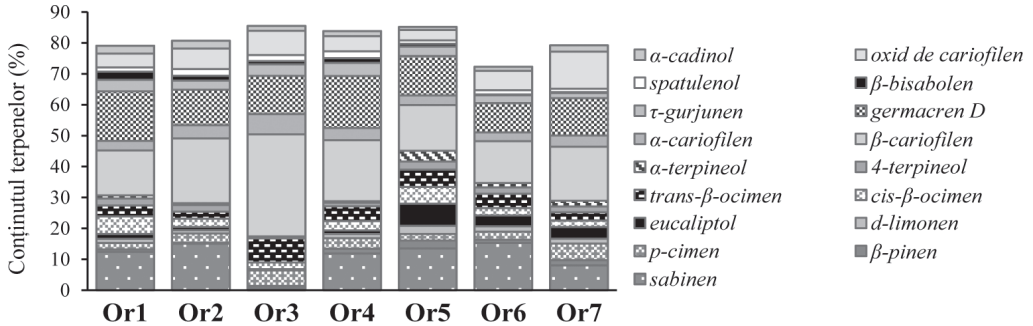


Figura 3. Compuși terpenici în extractele vegetale de *O. vulgare* (concentrații $\geq 2\%$). Compuși monoterprenici (*sabinen*, β -*pinen*, β -*mircen*, *p*-*cimen*, *d*-*limonen*, *eucaliptol*, *cis*- β -*ocimen*, *trans*- β -*ocimen*, γ -*terpinen*, 4-*terpineol*, α -*terpineol*); compuși sesquiterpenici (β -*cariofilen*, α -*cariofilen*, *germacren D*, τ -*gurjunen*, β -*bisabolen*, *spatulenol*, *oxid de cariofilen*, α -*cadinol*).

În scopul relevării asocierilor cantitative dintre componenții uleiului volatil, identificării compușilor cu pondere procentuală mare atât la nivelul întregii populații, cât și al subpopulației, a fost efectuată Analiza Componentelor Principale (ACP). Astfel, modelul teoretic generat de ACP pe matricea de covarianță a valorilor concentrației (%) celor 38 de compuși din uleiul volatil a indicat 2 componente principale, care explică 81% din varianța datelor inițiale (fig. 4). Aceste componente principale corelează cu 21 de compuși chimici, dintre care 9 cu CP1 și 12 cu CP2:

- corelații pozitive cu CP1: α -*tujen* ($r=0,94$), β -*cariofilen* ($r=0,98$), (+)-*epi-biciclosesquifelandren* ($r=0,71$), α -*cariofilen* ($r=0,98$);
- corelații negative cu CP1: α -*pinen* ($r=-0,80$), *sabinen* ($r=-0,92$), β -*mircen* ($r=-0,72$), *d*-*limonen* ($r=-0,78$), 4-*terpineol* ($r=-0,89$);
- corelații pozitive cu CP2: *oxid de cariofilen* ($r=0,80$), τ -*murolol* ($r=0,89$), *dihidro-edulan I* ($r=0,53$), *p*-*cimen* ($r=0,51$);
- corelații negative cu CP2: α -*terpinen* ($r=-0,86$), *cis*- β -*ocimen* ($r=-0,63$), γ -*terpinen* ($r=-0,90$), *germacren D* ($r=-0,79$), τ -*gurjunen* ($r=-0,92$), β -*bisabolen* ($r=-0,82$), 3-*octanonă* ($r=-0,83$), 3-*octanol* ($r=-0,77$).

Analiza componentelor principale a evidențiat 9 compuși, care caracterizează valoarea aromatică a uleiului extras de la cele 7 subpopulații studiate. Aceștia sunt: β -*cariofilen* (56,85%), *oxid de cariofilen* (33,80%), *sabinen* (29,96%), *germacren D* (28,25%), *cis*- β -*ocimen* (6,47%), τ -*gurjunen* (4,10%), β -*bisabolen* (3,14%), γ -*terpinen* (3,08%), *p*-*cimen* (3,00%) și pot reprezenta o chemovarietate a uleiului volatil al populației din flora spontană a Republicii Moldova (Orheiul Vechi) cu rol de „marker” în autentificare.

Compușii β -*cariofilen* ($r = 0,98$) și *sabinen* ($r = -0,92$) se încadrează în grupul de asocieri corelative pe CP1, iar *oxidul de cariofilen* ($r = 0,80$), *cis*- β -*ocimenul* ($r = -0,63$),

γ -terpinenul ($r=-0,90$), *germacren D* ($r=-0,79$), τ -gurjunenul ($r=-0,92$) și β -bisabolenul ($r=-0,82$) – în grupul corelat cu CP2. Din reprezentarea grafică (fig. 4) se poate concluce despre compușii care diferențiază subpopulațiile (valoare minimă a conținutului unui compus chimic – 4%). Astfel, se disting câteva chemovarietăți repartizate în 2 grupuri: subpopulațiile Or1, Or2, Or5, Or6 și Or3, Or4, Or7.

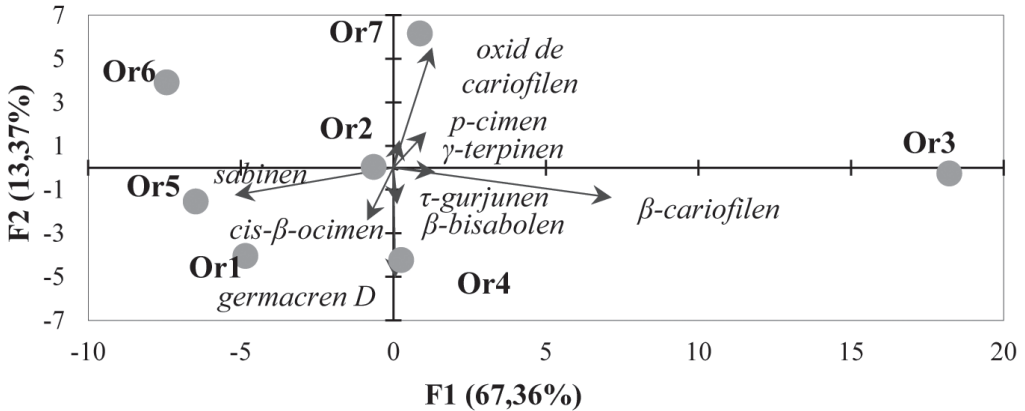


Figura 4. Compuși terpenici cu contribuție procentuală mare în variabilitatea chimică a subpopulațiilor de *O. vulgare* (după modelul ACP).

Întrucât, compușii β -cariofilen, *germacren D*, *sabinen*, *oxid de cariofilen*, *cis- β -ocimen* și *p-cimen* se conțin în concentrații relativ mari în plantele din populația habitatului natural autohton, aceștia au fost analizați comparativ cu cei din profilul chimic al speciei *O. vulgare* din flora spontană a diferitor țări (date din literatură). Expunerea grafică a valorilor cantitative medii (%) ale compușilor uleiului volatil de *O. vulgare* ssp. *vulgare* din habitatul natural al diferitor regiuni geografice: Italia [5], Lituania [15], Polonia [25], Turcia [2], Bulgaria [11] a relevat diferențe în conținut și structură (fig. 5).

În probele colectate din zona munților Rhodopa a Bulgariei (1100 m altitudine) s-a evidențiat prin concentrații ridicate *spatulenolul* (20,7%), β -cariofilenul (9,9%) și *oxidul de cariofilen* (5,7%), autorul studiilor prezentând-ul ca chemotip. Contrar acestor date, ponderea cantitativă a compusului sesquiterpenic – *spatulenol*, în plantele autohtone este mult mai mică: 1,1-2,2%.

Componenții β -ocimen, *sabinen*, *germacren D* și β -cariofilen, identificați în plantele de *O. vulgare* din Republica Moldova, sunt prezenți și în cele colectate din 8 localități ale Lituaniei, fiind considerate chemotip de β -ocimen. Însă, în uleiul esențial a plantelor de *O. vulgare* ssp. *vulgare* din Turcia (apropierea orașului Erzurum), β -ocimenul lipsește (fig. 5) [2].

Cercetări fitochimice au fost efectuate și asupra ssp. *vulgare* din habitatul natural al Italiei. Plantele au fost colectate din regiunea Veneto (nord-estul Italiei) pentru a studia variabilitatea compoziției uleiului esențial în conformitate cu gradientul altitudinal (200-1509 m) [5]. Uleiul esențial obținut din plantele cu biotopul la 200 m altitudine (Colli Euganei) conține compușii: (*Z*)- β -ocimen (6,6-19,0%), (*E*)- β -ocimen (10,4-17,5%), (*E*)-cariofilen (8,0-14,6%) și *germacren D* (11,1-20,7%), spre deosebire de cel extras din plantele de la o altitudine mult mai mare (Val Garés, 1509 m) cu un conținut

ridicat de γ -terpinen (24,4-38,5%) și carvacrol (31,5-40,0%). Aceste cercetări sunt în concordanță cu datele prezentate în lucrarea de față, care a scos în evidență conținutul crescut de sesquiterpene, în special β -cariofilen, în uleiul volatil de *O. vulgare* ssp. *vulgare* prelevată de la o altitudine comparativ mică (74 m).

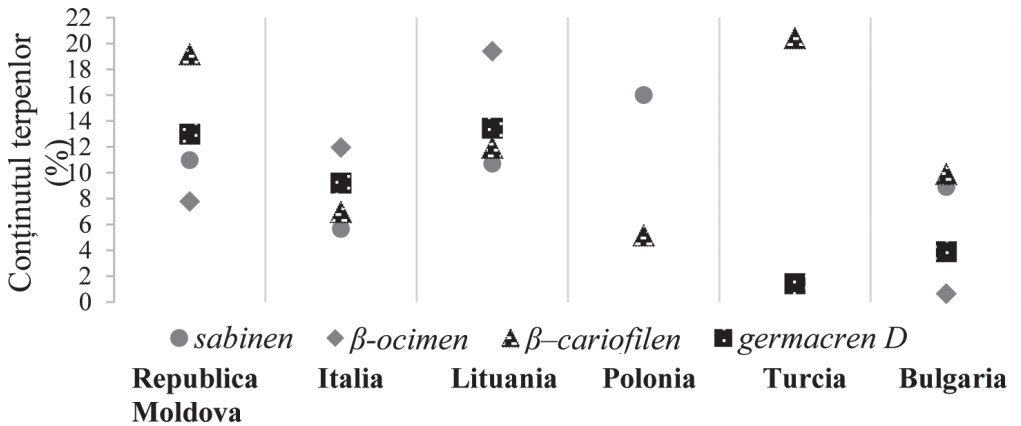


Figura 5. Variația concentrației de sesquiterpene în extractele vegetale de *O. vulgare* ssp. *vulgare* (flora spontană) în funcție de regiunea geografică.

Datele descrise în lucrare sunt similare și cu cele prezentate de Nurzyńska-Wierdak R. (2012), care prin analizele GC-MS și GC-FID (cromatografie în fază gazoasă cu detector de ionizare în flacără) a uleiului volatil din plantele de *O. vulgare* ssp. *vulgare* din Polonia, a constatat concentrații maxime la aceiași componenți chimici: sabinen (10,9-25,5%), germacren D (9,4-15,3%), Z-(β)-ocimen (9,1-16,3%) și β -cariofilen (9,4-12,9%) [18].

Studiul de sinteză privind cercetările plantelor de *O. vulgare* ssp. *vulgare*, provenite din diferite regiuni geografice și de la diferite altitudini, a confirmat faptul că subspecia care habitează în diferite condiții ecologice, în același areal geografic, poate prezenta diferite chemotipuri ale uleiului volatil. Totodată, plantele afectate de factori de stres prezintă modificări semnificative în compoziția biochimică. De exemplu, un studiu recent a demonstrat creșterea conținutului substanțelor biologic active, cu excepția pigmentilor, la plantele de *O. vulgare* supuse la temperaturi relativ mici și iradiere de $100 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$ [23].

Comparativ cu plantele din flora spontană, variabilitatea chimică a uleiului volatil între genotipuri este mai mică la cele din culturile experimentale. Astfel, analiza calitativă (GC și GC-MS) a uleiului esențial de la 6 genotipuri de *O. vulgare* ssp. *vulgare* din colecția Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor (IGFPP) a pus în evidență un număr similar de compuși la toate genotipurile studiate și o concentrație variabilă, dar nu în limite largi [7]. Au fost identificați 41 de componenți (VG-4), cu concentrații mari fiind: germacren D (17,0%), β -cariofilen (13,1%), carvacrol (11,7%), sabinen (9,8%), trans- β -ocimen (9,4%), cis- β -ocimen (6,0%) și γ -elemen (4,1%).

Particularitățile distinctive marcante ale uleiului volatil extras din plantele din rezervația Orheiul Vechi față de cele din cultură este lipsa carvacrolului, concentrația variabilă de β -cariofilen (33,0%) și sabinen (15,3%). Este important de menționat și datele unui studiu publicat cu un an mai târziu (2015), care a identificat la alte 5

genotipuri de *O. vulgare* ssp. *vulgare* (Ovv 2,3,5,6,7 din colecția IGFPP) o variabilitate comparativ mai mare, atât în numărul de componenți majoritari, cât și în concentrația acestora [6].

Se consideră că terpenele sunt generate prin 2 căi metabolice: dependentă de mevalonat (MVA), localizată în citozol, prin care are loc formarea sesquiterpenelor (C15) și 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfat (MEP), activă în plastide, rezultând hemi- (C5), mono- (C10) și diterpenele (C20) [24]. Diverse studii au relevat sporirea sintezei terpenelor în citozolul celulelor secretoare ca răspuns la o varietate de factori stresogeni, de exemplu seceta, care reduce sinteza de substrat fotosintetic, inclusiv transportul asimilatelor, inhibând astfel procesul de creștere. Perturbarea metabolismului PMA determină sinteza terpenoidelor prin alte căi (atipice) asigurate de schimbul de substrat între citozol și plastide, precum și de modificări la nivel de expresie a genelor care codifică terpensintetazele, responsabile de fondul metaboliților secundari. Recent au fost prezentate date care sugerează asupra sintezei de monoterpene în citozol și chiar în mitocondrii [19]. De menționat, că variabilitatea fitochimică a compușilor terpenici este în funcție de tipul de enzimă activă, cu specificitate ridicată sau redusă pentru produsul final. Deși enzimele cu specificitate largă a substratului pot scinda substraturi multiple, afinitatea pentru acestea variază prin ratele de reacție chimică [24]. Toate aceste caracteristici biochimice cu nivele complexe de reglare genică și fiziologică fac posibilă adaptarea PMA în diferite condiții ecologice, prin sinteza unui set variat de terpenoizi necesari în interacțiunea cu mediul biotic și abiotic, oferindu-le un avantaj selectiv [19].

În concluzie, particularitatea distinctivă a uleiului volatil extras din plantele autohtone de *O. vulgare* ssp. *vulgare* constă în variabilitatea biochimică intrapopulațională determinată de cantități mari de sesquiterpene (42-73%) și moderate de monoterpene (21-51%). Este important de menționat, pe de o parte, lipsa *carvacrolului* și *timolului*, iar pe de alta, prezența în cantități semnificative a precursorilor biosintetici și alți compuși, asociați căii metabolice de sinteză a acestora.

Concluzii

1. Studiul biochimic al extractelor vegetale a plantelor de *O. vulgare* ssp. *vulgare* a demonstrat că în fracția compușilor polifenolici predomină acizii polifenolcarboxilici (70%), iar bioacumularea flavonoidelor variază la nivel intrapopulațional (10-40%) și corelează cu gradientul altitudinal și direcția de expoziție a versantului Butuceni de pe care au fost colectate plantele.

2. Componentul majoritar în fracția compușilor polifenolici este *acidul rozmarinic* și prezintă valori maxime la plantele din subpopulația Or6.

3. Analiza uleiului volatil prin GC-SM a evidențiat cantități mai mari cu 23-70% ale sesquiterpenelor față de cele ale monoterenelor. Din 38 de compuși identificați, 20 sunt monoterpene, 15 sesquiterpene și 3 componenți minoritari (cu valori mai mici de 1%) *dihidro-edulan I*, *3-octanonă* și *3-octanol*.

4. Au fost identificați 9 compuși majoritari: *β-cariofilen*, *oxid de cariofilen*, *sabinen*, *germacren D*, *cis-β-ocimen*, *τ-gurjunen*, *β-bisabolen*, *γ-terpinen*, *p-cimen* ce caracterizează valoarea aromatică a uleiului volatil al speciei *O vulgare* ssp. *vulgare* reprezentând o chemovarietate a plantelor din flora spontană a Republicii Moldova (rezervația Orheiul Vechi).

Bibliografie

1. *Berghold H. et al.* Yield, content and composition of the essential oil of five Origanum strains (*Origanum vulgare* L.) depending on the developmental stage. *Journal of Medicinal & Spice Plants*. 2008, vol. 13, p. 36-43.
2. *Bozari S. et al.* Toxic Effects of Essential Oil of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* Against to *Zea mays* Seedlings. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2014, vol. 17(1), p. 67-77.
3. *Ceapoiu N.* Genetica și evoluția populațiilor biologice. Editura Academiei Republicii Socialiste România. București, 1976, 281 p.
4. *Davidenco V. et al.* Development in *Origanum* ssp.: A simple phenological scale to determine thermal time requirements to critical reproductive events. *Scientia Horticulturae*. 2015, vol. 186, p. 70-76.
5. *Giuliani C. et al.* Congruence of phytochemical and morphological profiles along an altitudinal gradient in *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* from Venetian Region (NE Italy). *Chemistry & Biodiversity*. 2013, vol. 10, p. 569-583.
6. *Gonceariuc M. et al.* Biochemical diversity of the *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* L. and *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart genotypes from Moldova. *Buletinul AȘM, Științele vieții*. 2015, nr. 2 (326), p. 92-100.
7. *Gonceariuc M. et al.* Essential oil of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* L. and *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart from Moldova: content and chemical composition. In: *International Journal of Agriculture Innovations and Research*. 2014, vol. 3(2), p. 659-663.
8. *Hemcinschi Lungu A.* Contribuții la studiul unor specii indigene de *Galium* și *Ajuga*: rezumat. tz. de doct. șt. farmacologice. Iași, 2010. 56 p.
9. *Jolliffe I. T, Cadima J.* Principal component analysis: a review and recent developments. *Philosophical Transactions of the Royal Society*. 2016, p. 1-16.
10. *Kadiasi N. et al.* Variability of the essential oil composition in *Origanum vulgare* subsp. *vulgare* collected in Albania. *Albanian Journal of Agricultural Sciences*. 2018, vol. 17(1), p. 91-97.
11. *Kula J. et al.* Chemical composition of *Origanum vulgare* L. essential oil from Bulgaria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2007, vol. 10, p. 215-220.
12. *Lukas B.* Molecular and phytochemical analyses of the genus *Origanum* L. (Lamiaceae). dissertation. Dissertationsgebiet (lt. Studienblatt): Botanik. Wien: Austria, 2010. 183 p.
13. *Lukas B., Schmiderer C., Novak J.* Essential oil diversity of European *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae). *Phytochemistry*. 2015, vol. 119, p. 32-40.
14. *Mărușteri Ș. M.* Noțiuni fundamentale de biostatistică: note de curs. Târgu-Mureș: University Press, 2006. 220 p.
15. *Mockute D., Bernotiene G., Judzentiene A.* The β -ocimene chemotype of essential oils of the inflorescences and the leaves with stems from *Origanum vulgare* subsp. *vulgare* growing wild in Lithuania. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2003, vol. 31, p. 269-278.
16. *Mutu A.* Diversitatea structurală și funcțională la *Origanum vulgare* L.: teză de doct., șt. biologice. Chișinău, 2020. 173 p.
17. *Negru A.* Determinator de plante din flora Republicii Moldova. Chișinău: Universul, 2007, 391 p.
18. *Nurzyńska-Wierdak R. et al.* The composition of essential oil from three ecotypes of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* cultivated in Poland. *Farmacia*. 2012, vol. 60(4), p. 571-577.
19. *Pazouki L., Niinemets Ü.* Multi-Substrate Terpene Synthases: Their Occurrence and Physiological Significance. *Frontiers in Plant Science*. 2016, vol. 7, p. 1-16.
20. *Port A., Mutu A., Ciocârlan N., Duca M.* Studiul variabilității genetice la *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* prin analiza componentelor principale. *Buletinul AȘM. Științele vieții*. 2018, nr. 3(336), p. 95-108.

21. *Porter C. L.* Taxonomy of Flowering Plants. FREEMAN, W. H. and Company, California: San Francisco USA. 1967, 472 p.
22. *Skoula M., Harborne J. B.* Taxonomy and chemistry of Origanum. KINTZIOS S. E. ed. Oregano: The genera Origanum and Lippia, Medicinal and aromatic plants – industrial profiles. vol. 25. USA: Taylor and Francis CRC Press, 2002. p. 67-108.
23. *Szczalba M. et al.* Combined effect of chilling and light stress on the metabolic profile of *Origanum vulgare* L. in the juvenile stage. Fresenius Environmental Bulletin. 2019, vol. 28(5), p. 3981-3990.
24. *Tholl D.* Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. Current Opinion in Plant Biology. 2006, vol. 9, p. 297-304.
25. *W'glarz Z. et al.* Intraspecific variability of wild marjoram (*Origanum vulgare* L.) naturally occurring in Poland. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. 2006, vol. 8, p. 23-26.
26. *Yadav R. K. et al.* Effect of prolonged water stress on specialized secondary metabolites, peltate glandular trichomes, and pathway gene expression in *Artemisia annua* L. Plant Physiology and Biochemistry. 2014, vol. 74, p. 70-83.