STUDIEREA EFECTULUI BIOSTIMULATOR AL LICHIDULUI CULTURAL DE LA CULTIVAREA CIANOBACTERIEI *SPIRULINA PLATENSIS* ASUPRA GERMINĂRII SEMINȚELOR DE *GALEGA ORIENTALIS* LAM. MENȚINUTE ÎN COLECȚII

THE STUDY OF THE BIOSTIMULATOR EFFECT OF THE CULTURAL LIQUID FROM THE CULTIVATION OF THE CYANOBACTERIA *SPIRULINA PLATENSIS* ON THE GERMINATION OF *GALEGA ORIENTALIS* LAM SEEDS. KEPT IN COLLECTIONS

CZU: 582.738:631.547.1/2:582.232 **https://doi.org/10.59295/spd2024n.07**

Sergiu DOBROJAN,
ORCID: 0000-0003-0040-5836
e-mail: sergiudobrojan84@yahoo.com
Universitatea de Stat din Moldova
Victor MELNIC,
ORCID: 0000-0001-6374-2499
e-mail: melnicvictor088@gmail.com
Universitatea de Stat din Moldova
Victor ȚÎȚEI,
ORCID: 0000-0002-1961-1536
e-mail: vic.titei@gmail.com
Grădina Botanică Națională (Institut) „Alexandru Ciubotaru”,
Universitatea de Stat din Moldova
Galina DOBROJAN,
e-mail: galinadobrojan87@gmail.com
Universitatea de Stat din Moldova
Angela MELNIC,
e-mail: melnicvictor088@gmail.com
Universitatea de Stat din Moldova
Alina TROFIM,
ORCID: 0000-0003-4557-9602
e-mail: alina.trofim@usm.md
Universitatea de Stat din Moldova
Tamara MERCIUCARI,
e-mail: team_vit@mail.ru
Universitatea de Stat din Moldova

Summary. *In this study, the potential of biostimulants obtained from the culture medium of the cyanobacterium Spirulina platensis to improve the germination of Galega orientalis L. seeds*

maintained in collection conditions for 4 years was investigated. Throughout the experiments, the germination rate (GR) and germination index (GI) of seeds treated with different concentrations (1%, 2%, 4%) of the biostimulant were evaluated, compared to the control group. The results indicate a significant improvement in the germination of seeds treated with cyanobacterial biostimulants. The concentration of 2% biostimulant with a 2-hour exposure presented the highest germination rate over the analyzed period. These findings suggest that cyanobacterial biostimulants have potential in enhancing the germination efficiency of Galega orientalis L. seeds maintained in collection conditions for 4 years, offering promising applications in the efficient conservation of the species' gene pool in seed collections and for agricultural practices aimed at improving crop performance.

Keywords: *biostimulator, seed germination, spirulina platensis*
Cuvinte-cheie*: biostimulator, germinarea semințelor, spirulina platensis*

INTRODUCERE

Galega orientalis Lam. este o specie perenă din familia *Fabaceae*, cunoscută pentru revigorarea sa precoce. Această plantă formează între 20 și 30 de lăstari per tufă și poate să se mențină pe același teren timp de până la 20 de ani. Este originară din regiunile montane ale Europei de Est și Asiei de Vest. Cunoscută și sub numele de Galega orientală sau lupin albastru, această leguminoasă perenă are o importanță agronomică și ecologică semnificativă. *Galega orientalis* prezintă interes în agricultură datorită capacității sale de a fixa azotul atmosferic în sol prin simbioza cu bacteriile din genul *Rhizobium*, contribuind astfel la îmbunătățirea fertilității solului și reducerea necesității de îngrășăminte chimice [1]. De asemenea, este utilizată ca furaj de înaltă calitate pentru animale, datorită conținutului său ridicat de proteine și digestibilității bune a acesteia [2].

Planta prezintă interes de cercetare, cultivare şi datorită proprietăţilor medicinale, una dintre principalele proprietăți medicinale ale *Galega orientalis* este capacitatea sa de a stimula producția de lapte la mamifere, inclusiv la femei care alăptează. Această calitate lactogenă este datorată prezenței unor compuși bioactivi, cum ar fi galegina, care acționează asupra glandelor mamare pentru a crește secreția de lapte [3]. *Galega orientalis* are, de asemenea, proprietăți hipoglicemiante, fiind utilizată în mod tradițional pentru a controla nivelul de zahăr din sânge. Studiile au arătat că galegina, un alcaloid izolat din această plantă, are efecte similare cu cele ale metforminei, un medicament utilizat în tratamentul diabetului de tip 2 [4]. Galegina acționează prin inhibarea glucozidazei, enzima care descompune carbohidrații în glucoză, reducând astfel absorbția glucozei în intestin și scăzând nivelul de zahăr din sânge [5]. Pe lângă aceste proprietăți, *Galega orientalis* are efecte diuretice și detoxifiante. Extractele din această plantă au fost folosite pentru a trata edemele și retenția de lichide, promovând eliminarea excesului de apă din organism prin creșterea producției de urină [6]. De asemenea, planta posedă proprietăţi antioxidante, datorită conținutului ridicat de flavonoide și alți compuși fenolici care ajută la neutralizarea radicalilor liberi și la protejarea celulelor de stresul oxidativ [7]. *Galega orientalis* posedă proprietățile antiinflamatorii și antimicrobiene. Studiile in vitro au demonstrat că extractele din această plantă pot inhiba creșterea unor bacterii patogene,

cum ar fi *Staphylococcus aureus* și *Escherichia coli*, prezentând un agent antimicrobian natural [8]. Proprietățile antiinflamatorii ale galeginei și ale altor compuși prezenți în plantă sunt utile în tratamentul inflamațiilor și al afecțiunilor inflamatorii cronice [9].

Specia nu se întâlneşte în vegetaţia spontană naţională, iar pentru menţinerea genofondului acesteia este necesară conservarea prin intermediul băncilor de gene pentru menținerea și valorificarea ulterioară a acesteia. Seminţele menţinute în băncile de gene îşi pierd în timp capacitatea de germinare din cauza dormanței tegumentare şi de accea este necesară utilizarea unor tehnici specifice pentru a îmbunătăți rata de germinare [10]. În acest context, utilizarea cianobacteriilor, în special a *Spirulinei platensis*, a fost propusă ca o metodă inovatoare pentru a stimula germinarea semințelor. *Spirulina platensis* este o cianobacterie bine cunoscută pentru conținutul său bogat în proteine, vitamine, minerale și fitohormoni, substanţe care au efecte benefice asupra creșterii și dezvoltării plantelor [11].

Studiile recente au arătat că cianobacteriile, inclusiv *Spirulina platensis*, pot elibera substanțe bioactive în mediul de cultură (fitohormoni, metaboliți şi alți compuși organici) care au efect stimulativ asupra germinării și creșterii plantelor [12, 13]. De menţionat că actualmente se utilizează în practica de exploatare doar biomasa de *Spirulina platensis,* care este separată de lichidul cultural prin diferite tehnici, iar lichidul cultural ce conţine numeroase substanţe biologic active şi săruri minerale prezintă un deșeu nevalorificat ce necesită a fi neutralizat fapt care atrage cheltuieli suplimentare. Astfel, valorificând lichidul cultural prin obținerea de biostimulatori prezintă o modalitate practică de realizare a economiei circulare şi de protecţie ridicată a mediului înconjurător.

Un alt avantaj al utilizării *Spirulinei platensis* este capacitatea sa de a coloniza suprafața semințelor și de a forma un microstrat protector care poate proteja semințele de patogeni și de condițiile adverse de mediu [14]. Astfel, tratamentul semințelor de *Galega orientalis* cu *Spirulina platensis* poate reprezenta o strategie ecologică și eficientă pentru a îmbunătăți germinarea seminţelor menţinute în condiţii de colecţii, asigurarea creșterii sănătoasă a plantelor, prezentând o soluție sustenabilă și eficientă pentru îmbunătățirea productivității plantei și totodată asigurarea conservării acesteia.

Scopul acestei lucrări este de a studia efectul biostimulator al lichidului cultural parvenit de la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* pentru germinarea semințelor de *Galega orientalis* Lam. menținute în colecții.

MATERIAL ȘI METODĂ

În cadrul experimentelor a fost utilizată tulpina cianobacteriei *Spirulina platensis* selectată în cultură de către m.c., prof. Vasile Șalaru, acad., prof. Valeriu Rudic și coautorii. Tulpina de *Spirulina platensis*, depozitată în colecția LCȘ „Algologie Vasile Șalaru" a Universității de Stat din Moldova, a fost cultivată pe mediul nutritiv lichid Zarrouk modificat (cu următoarea componenţă (g/l): $NaHCO_3$ – 8; K_3HPO_4 - 0,5; $NaNO_3$ - 2,5; K_2SO_4 – 1; NaCl – 1; $MgSO_4$ – 0,2; $CaCl_2$ – 0,04; $FeSO_4$ – 0,01; NaEDTA – 0,08; apă potabilă – 1 L), inoculul constituind 0,5 g/l (biomasă absolut uscată). La a 20-a zi de

cultivare a cianobacteriei *Spirulina platensis*, biomasa algală a fost separată de lichidul cultural prin centrifugare (la viteza de 6000 rot/min), iar lichidul cultural a fost utilizat pentru obținerea biostimulatorului aplicat în experimente. Biostimulatorul cianobacterian a fost obținut prin activarea termică a lichidului cultural separat.

În experimente s-au utilizat soluțiile cu concentrații de 1-4% obținute prin diluția lichidului cultural generat de la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* cu apă distilată. Semințele de *Galega orientalis* L., menţinute în condiţii de colecţie timp de 4 ani, în număr de 100 pentru fiecare lot experimental, au fost expuse în soluțiile preparate timp de 1-4 ore, iar ca martor au servit aceleași semințe expuse în apă distilată în același interval de timp. Semințele experimentale de *Galega orientalis* L. au fost puse la dispoziţie de către dr. Victor Ţiţei angajat a Grădinii Botanice Institut Al. Ciubotaru a Universităţii de Stat din Moldova. Pentru studierea procesului de germinare, semințele au fost plasate în vasele Petri, pe hârtia de filtru umezită cu apă distilată, la iluminarea naturală și temperatura de 22^{o}C. În cadrul cercetărilor au fost determinați următorii indicatori:

- Facultatea germinativă a semințelor (FG), conform formulei: FG = Nsg/Nts * 100, unde Nsg – numărul semințelor germinate; Nts – numărul total de semințe;
- Indicele de germinare (IG) calculat la a 5-a zi de experiment, conform formulei: IG = $\sum$(Gt/Tt), unde Gt – numărul de semințe germinate în perioada de timp t, iar Tt – numărul de zile.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

După cum am menţionat, biostimulatorii obținuți din *Spirulina platensis*, sunt recunoscuți pentru capacitatea lor de a îmbunătăți germinarea semințelor și creșterea plantelor. Studiile au arătat că acești biostimulatori conțin substanțe bioactive, cum ar fi aminoacizi, vitamine și hormoni de creștere, care stimulează procesele fiziologice și biochimice din plante [15]. În cazul semințelor de *Galega orientalis* L., tratamentul cu biostimulatori algali poate accelera germinarea și îmbunătăți vigurozitatea plantelor tinere, contribuind astfel la o mai bună adaptare și dezvoltare în soluri diverse [16]. De asemenea, biostimulatorii algali pot spori toleranța plantelor la stresuri abiotice, cum ar fi seceta sau salinitatea, prin activarea mecanismelor de apărare și reducerea efectelor negative ale acestor factori asupra metabolismului plantelor [17, 18].

De menționat că pentru conservarea relativ ieftină și sigură a unor plante este necesară menținerea acestora în bănci de semințe. Însă, capacitatea de germinare a semințelor poate scădea odată cu trecerea timpului. În general, pentru unele specii de plante, semințele proaspete au o rată de germinare mai mare comparativ cu cele vechi [19]. De aceea, este esențial ca semințele păstrate pe termen lung să fie stimulate pentru a mări facultatea germinativă.

Utilizarea biostimulatorului cianobacterian experimentat a atestat intensificarea procesului de germinare a semințelor de *Galega orientalis* L. menţinute în condiţii de colecţii fapt caracterizat prin majorarea facultăţii germinative a acestora (Tab. 1).

Tab. 1. Facultatea germinativă a semințelor de *Galega orientalis* L. tratate cu biostimulator obţinut din lichidul cultural rezultat de la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis*, %

Perioada de tratare a seminţelor, ore	Variantele experimentale			
	1%	2%	4%	Control
1-a zi				
1	30,00	33,00	27,00	7,00
2	20,00	20,00	27,00	10,00
4	10,00	23,00	20,00	10,00
2-a zi				
1	37,00	34,00	30,00	7,00
2	40,00	60,00	37,00	23,00
4	43,00	37,00	43,00	17,00
3-a zi				
1	37,00	34,00	30,00	7,00
2	40,00	60,00	37,00	27,00
4	43,00	37,00	43,00	20,00
4-a zi				
1	37,00	34,00	30,00	7,00
2	40,00	60,00	37,00	27,00
4	43,00	37,00	43,00	20,00
5-a zi				
1	37,00	34,00	30,00	7,00
2	40,00	60,00	37,00	27,00
4	43,00	37,00	43,00	20,00

După cum se observă, din datele prezentate în tab. 1 în general, semințele tratate cu biostimulatori obţinut din lichidul cultural rezultat de la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* prezintă o facultate germinativă mai mare comparativ cu grupul de control. De exemplu, pentru varianta experimentală cu concentraţia de 2% tratate timp de 2 ore cu biostimulator, la a doua zi, se înregistrează o rată de germinare de 60%, față de doar 23% în grupul de control. În primele zile de tratament, semințele par să aibă o reacție favorabilă la concentrații mai mari ale biostimulatorului, cu o tendință de stabilizare a ratelor de germinare pe parcursul perioadelor următoare. De menţionat că seminţele menţinute în condiţii de colecţie, chiar şi în condiţiile de biostimulare, atestă valori ale facultăţii germinative de 60%, rezultate care sunt promiţătoare şi deschid perspectiva utilizării biostimulatorilor cianobacterieni pentru germinarea eficientă a seminţelor de *Galega orientalis* L. menţinute în condiţii de colecţii.

Tab. 2. Valorile indicelui de germinare a semințelor de *Galega orientalis* L. tratate cu biostimulator obţinut din lichidul cultural rezultat de la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis*

Perioada de tratare a semințelor, ore	**Variantele experimentale**			
	1%	**2%**	**4%**	**Control**
1	7,4	6,8	6,0	1,4
2	8,0	12,0	7,4	5,4
4	8,6	7,4	8,6	4,0

Rezultatele indicelui de germinare a semințelor de *Galega orientalis* L. tratate cu biostimulatori obţinut din lichidul cultural rezultat de la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis,* calulate pentru a 5-a zi de experiment, indică că în general semințele tratate cu biostimulatori la concentrații diferite au indicatoare de germinare variabile în funcție de perioada de tratament. Pentru varianta experimentală cu 2% biostimulator, tratată timp de 2 ore, se înregistrează cel mai mare indice de germinare cu valori de 12. Acest lucru sugerează că concentrația de 2% și timpul de tratament de 2 ore au avut un impact pozitiv asupra germinării semințelor de *Galega orientalis* L. menţinute în condiţii de colecţii. În loturile de control, unde semințele au fost tratate doar cu apă distilată, prezintă cele mai scăzute valori ale indicelui de germinare în toate perioadele de timp de expunere la tratat a seminţelor (Tab. 2). Rezultatele obţinute ne permit să constatăm că lichidul cultural obţinut de la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* posedă proprietăţi biostimulatoare asupra germinării seminţelor de *Galega orientalis* L. menţinute în condiţii de colecţie, astfel că acesta poate fi valorificat eficient în practică ca biostimulator germinativ al semințelor.

CONCLUZII

În rezultatul cercetărilor cantitative realizate sa constatat că tratarea semințelor de *Galega orientalis* L., menţinute în condiţii de colecţii timp de 4 ani, cu biostimulator derivat din lichidul cultural al cianobacteriei *Spirulina platensis* a avut ca efect îmbunătățirea semnificativă a facultății germinative și a indicelui de germinare. Cea mai optimă concentraţie de bistimulatori ciaobacterieni cu efect major asupra germinării seminţelor de *Galega orientalis* L. este de 2% cu expunerea seminţelor la tratat timp de 2 ore unde sau atestat cele mai mari rezultate ale facultăţii geminative a seminţelor (60,00%) şi a indecelui de germinare a seminţelor, calculat la a 5-a zi de experiment, (12,0) comparativ cu lotul de control (FG – 27% şi IG- 5,4). Aceste rezultate sugerează că biostimulatorii cianobacterieni obţinuţi din lichidul cultural rezultat de la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* ar putea fi utilizați eficient pentru optimizarea germinării semințelor de *Galega orientalis* L. menţinute în condiţii de colecţii, având potențial în practicile agricole pentru îmbunătățirea performanțelor culturilor şi pentru conservarea eficientă a genofondului speciei în condiţii de colecţii de seminţe.

REFERINȚE

1. GILLER, K. E. *Nitrogen Fixation in Tropical Cropping Systems 2 nd edition.* CABI Publishing, 2001. 423 p.
2. SKERMAN, P.J., CAMERON, D.G., RIVEROS, F. Tropical forage legumes. FAO Plant Production and Protection Series No. 2. FAOm, 1988. 609 p.
3. BONE, K.A *Clinical guide to blending liquid herbs: Herbal formulations for the individual patient*. Churchill Livingstone, 2003. 532 p.
4. BAILEY, C.J., DAY, C. Metformin: its botanical background. // *Practical Diabetes International, 2004*, 21(3), p. 115-117.
5. PETROVSKA, B. B. Historical review of medicinal plants' usage. // *Pharmacognosy Reviews,* 2012, 6(11), p. 1-5.
6. CHEVALLIER, A. *The encyclopedia of medicinal plants: a practical reference guide to over 550 key herbs and their medicinal uses*. Dorling Kindersley, 1996. 336 p.
7. KOLEVA, I.I., VAN BEEK, T.A., LINSSEN, J.P., DE GROOT, A., EVSTATIEVA, L.N. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. // *Phytochemical Analysis*, 2002, 13(1), p. 8-17.
8. RAUHA, J.P., REMES, S., HEINONEN, M., HOPIA, A., VUORELA, H., KAHKONEN, M., VUORELA, P. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. // *International Journal of Food Microbiology*, 2000, 56(1), p. 3-12.
9. WILLIAMS, C.A., HARBORNE, J.B. Flavone and flavonol glycosides. In The Flavonoids // *Springer, Boston, MA,* 1994, p. 337-385.
10. ALDERETE-CHÁVEZ, A., GARCÍA-SAUCEDO, P., RUTIAGA-QUIÑONES, J. G. Dormancy and germination in seeds of *Galega orientalis*. // *Seed Science and Technology*, 2010, 38(3), p. 556-563.
11. GERSHWIN, M.E., BELAY, A. Spirulina in human nutrition and health 1st Edition. CRC Press, 2008. 326 p.
12. GADEMANN, K., PORTMANN, C. Secondary metabolites from cyanobacteria: complex structures and powerful bioactivities. // *Current Organic Chemistry*, 2008, 12(4), p. 326-341.
13. TATON, A., GRUBISIC, S., BRAMBILLA, E., DE WIT, R., WILMOTTE, A. Cyanobacterial diversity in natural and artificial microbial mats of Lake Fryxell (McMurdo Dry Valleys, Antarctica): A morphological and molecular approach. // *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, nr. 69(9), p. 5157-5169.
14. BENEDETTI, M., VECCHI, M., BARERA, S., DALL'OSTO, L. Biomolecular interactions of Spirulina with the plant system. // Plant Science, 2018, 271, p. 28-38.
15. KHAN, W., RAYIRATH, U. P., SUBRAMANIAN, S., JITHESH, M. N.,

RAYORATH, P., HODGES, D. M., PRITHIVIRAJ, B. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. // *Journal of Plant Growth Regulation*, 2009, 28(4), p. 386-399.

16. CROUCH, I. J., BECKETT, R. P., VAN STADEN, J. Effect of seaweed concentrates on the growth and mineral nutrition of nutrient-stressed lettuce. // *Journal of Applied Phycology*, 1992, 4(2), p. 269-272.
17. RATHORE, S.S., CHAUDHARY, D.R., BORICHA, G.N., GHOSH, A., BHATT, B.P., ZODAPE, S.T., PATOLIA, J.S. Effect of seaweed extract on the growth, yield and nutrient uptake of soybean (*Glycine max*) under rainfed conditions. // *South African Journal of Botany*, 2009, 75(2), p. 351-355.
18. KARTHIKEYAN, K., SOMASUNDARAM, E., CHANDRASEKARAN, M. Impact of biostimulant seaweed extract on productivity and nutrient uptake of wheat (*Triticum aestivum*). // *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 2007, 77(9), p. 622-625.
19. BEWLEY, J.D., BRADFORD, K.J., HILHORST, H.W., NONOGAKI, H. *Seeds: Physiology of development, germination and dormancy, 3rd edition*. Springer, 2013. 392 p.