

VALORIFICAREA LICHIDULUI CULTURAL AL CIANOBACTERIEI *SPIRULINA PLATENSIS* PENTRU GERMINAREA SEMINTELOR DE *GALEGA ORIENTALIS* LAM. MENȚINUTE ÎN COLECȚII

Dobrojan Sergiu, <https://orcid.org/0000-0003-0040-5836>, sergiudobrojan84@yahoo.com,

Melnic Victor, <https://orcid.org/0000-0001-6374-2499>, melnicvictor088@gmail.com

Țiței Victor, <https://orcid.org/0000-0002-1961-1536>, vic.titei@gmail.com

Dobrojan Galina, galinadobrojan87@gmail.com

Melnic Angela, melnicvictor088@gmail.com

Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

Summary. Following quantitative research, it was found that treating *Galega orientalis* L. seeds with a biostimulant derived from the cultural liquid of the cyanobacterium *Spirulina platensis* over 3 years significantly improved germination capacity and germination index, while the relative root elongation had a lesser impact. The optimal concentration of 4% and exposure for 4 hours resulted in the highest germination rates (50,00%) and germination index (10,0) compared to the control group (FG – 33,00% and IG – 6,6). These findings suggest that cyanobacterial biostimulants could effectively enhance seed germination and conserve species in seed collections, potentially benefiting agricultural practices.

Keywords: biostimulant, seed germination, *Spirulina platensis*

Introducere

Datorită compoziției biochimice valoroase, lipsei toxinelor și efectele benefice induse cianobacteria *Spirulina platensis* este utilizată pe larg de către specia umană în vaste domenii de consum. Astfel, consumul global de *Spirulina* este în creștere, piața globală a *Spirulinei* este estimată să atingă o valoare de 484,7 milioane USD în a. 2024, cu o rată de creștere anuală de 7,6% până în 2031 [1]. În anul 2024, se estimează că segmentul de alimente și băuturi va reprezenta 38,5% din piața globală a *Spirulinei* [2, 3]. Cantitativ consumul global anual de *Spirulină* este de aproximativ 88 000,00 de tone. Pentru a satisface aceste necesități cianobacteria *Spirulina platensis* se cultivă în masă în cantități industriale. În rezultatul cultivării în masă se obțin volume impunătoare de lichid cultural care se transformă, în cele mai dese cazuri, în deșeu de producție cianobacteriană. Utilizarea repetată a lichidului cultural la creșterea *Spirulinei* este inefficientă, proporțiile elementelor nutritive sunt dezechilibrate și biomasa de *Spirulină* nu acumulează principiile bioactive în cantitatea necesară. Astfel, lichidul cultural devine o sursă poluantă, care participă atât la poluarea chimică a mediului cu resturi ale nitraților, fosfaților, carbonaților, etc., cât și organică, prin dezvoltarea microflorei și a vegetației nespecifice în zonele de scurgere a acestuia care pot provoca chiar și eutrofizarea bazinelor acvatice [4]. În acest sens, valorificarea lichidului cultural prin obținerea de biostimulatori prezintă o modalitate practică de realizare a economiei circulare și de protecție ridicată a mediului înconjurător.

Actualmente specia *Galega orientalis* Lam. are un interes sporit pentru cultivare. În condiții naturale *Galega orientalis* Lam. se întâlnește în Caucaz [5], iar în flora noastră națională nu a fost identificată de aceea aceasta trebuie introdusă în cultură. În condiții de introducere în cultură *G. orientalis* Lam. are abilități de adaptare ridicate, stabilitate în cenoze (de 6-8 ani), randament ridicat și trăsături valoroase din punct de vedere economic (fitoprodusul 10-14 t/ha substanță uscată, randament proteic brut 1,8-2,4 t/ha, productivitatea semințelor 2-4 q/ha), recreștere timpurie primăvara și durată sezonul de vegetație toamna, rezistența la boli și dăunători, rezistență la frig și îngheț, calități de hrănire ridicate, palatabilitate bună a fitomasei și furaj preparat și poate fi utilizată pe termen lung [6]. Conform cercetărilor realizate de dr. V. Țiței sa constatat că cultivarea *Galega*

orientalis Lam. în condițiile Republicii Moldova permite obținerea a cca. 5,27 kg/m² de masă verde, iar substanța uscată se caracterizează prin conținut optim de proteine (16,20 %), celuloză (26,85 %), minerale (7,51 %) și cantitate mare de grăsimi (3,41 %), aminoacizi esențiali (lizină, metionină, treonina, fenilalanina, leucina), iar furajele acesteia sunt de foarte bună calitate [7].

Galega orientalis Lam. este cultivată pe suprafețe relativ mari în zone de pădure, silvostepă și stepă de pe teritoriul Belarus, Ucraina și Estonia, Federația Rusă, în cultură pură sau în amestec cu cereale perene ierburi pentru hrănire verde, fân, siloz, iarbă făină. De asemenea, ca plantă furajeră este cultivată în China, în țările occidentale, Austria, Franța etc. [8, 9].

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* [10]. De asemenea, este utilizată ca furaj de înaltă calitate pentru animale, datorită conținutului său ridicat de proteine și digestibilității bune a acesteia [11]. Planta prezintă interes de cercetare, cultivare și datorită proprietăților medicinale posedând efect hipoglicemiant, diuretic și detoxifiant, antioxidant, antiinflamator și antimicrobian [12, 13].

Pentru menținerea genofondului de *Galega orientalis* L. și a culturii este necesară conservarea prin intermediul băncilor de gene aceasta permițând menținerea și valorificarea ulterioară a acesteia. Semințele menținute în băncile de gene își pierd în timp capacitatea de germinare din cauza dormanței tegumentare și de aceea este necesară utilizarea unor tehnici specifice pentru a îmbunătăți rata de germinare [14, 15].

Astfel, ne-am propus să valorificăm lichidul cultural al cianobacteriei *Spirulina platensis* prin utilizarea acestuia în calitate de biostimulator pentru germinarea semințelor de *Galega orientalis* Lam. menținute în colecții.

Materiale și metode

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 LCS „Algologie Vasile Șalaru” a Universității de Stat din Moldova, a fost cultivată pe mediul nutritiv lichid Zarrouk modificat (cu următoarea componență (g/l): NaHCO₃ – 8; K₃HPO₄ – 0,5; NaNO₃ – 2,5; K₂SO₄ – 1; NaCl – 1; MgSO₄ – 0,2; CaCl₂ – 0,04; FeSO₄ – 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., menținute în condiții de colecție timp de 3 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 dispoziție de către dr. Victor Țiței angajat a Grădinii Botanice Institut Al. Ciubotaru a Universității 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°C. În cadrul cercetărilor au fost determinați următorii indicatori:

- *Facultatea germinativă a semințelor* (FG), conform formulei: $FG = N_{sg}/N_{ts} * 100$, unde N_{sg} – numărul semințelor germinate; N_{ts} – 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.

- *Alungirea relativă a rădăcinii* (ARR) calculată, la cea de a 7 zi de germinare, conform formulei: $ARR = (Le/Lc) \cdot 100$, unde: Le - lungimea rădăcinii în varianta experimentată; Lc - lungimea rădăcinii în varianta de control.

Rezultate și discuții

Semințele de *Galega orientalis* L. pot fi păstrate în colecții pentru perioade îndelungate, însă capacitatea lor de germinare poate scădea din cauza unor factori precum îmbătrânirea semințelor, deshidratarea și pierderea viabilității. Stocarea pe termen lung a semințelor poate duce la reducerea viabilității și creșterea dormanței. Totodată, menținerea semințelor în bănci de semințe trebuie realizată prudent deoarece unii factori (cum ar fi temperatura, umiditate aerului și a semințelor) influențează viabilitatea acestora [15]. Aceasta înseamnă că, chiar și în condiții optime de germinare, semințele pot să nu încolțească sau să prezinte o germinare întârziată [14].

Studiile recente au arătat că tratamentul semințelor cu biostimulatori derivați din cianobacterii, cum ar fi *Spirulina platensis*, poate îmbunătăți semnificativ ratele de germinare ale semințelor vechi [10] creînd premise astfel de valorificare și a lichidului cultural.

În rezultatul cercetărilor realizate am constatat că utilizarea biostimulatorului cianobacterian experimentat a atestat intensificarea procesului de germinare a semințelor de *Galega orientalis* L. menținute în condiții de colecții fapt caracterizat prin majorarea facultății germinative a acestora (Tab. 1).

Tabelul 1

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

Perioada de tratare a semințelor, ore	Variantele experimentale			
	1%	2%	4%	Control
1-a zi				
1	20,00	20,00	17,00	3,00
2	20,00	23,00	13,00	10,00
4	17,00	13,00	13,00	3,00
2-a zi				
1	27,00	27,00	27,00	27,00
2	23,00	40,00	33,00	20,00
4	37,00	27,00	47,00	30,00
3-a zi				
1	27,00	30,00	33,00	33,00
2	23,00	43,00	43,00	27,00
4	37,00	30,00	50,00	33,00
4-a zi				
1	27,00	30,00	33,00	33,00
2	23,00	43,00	43,00	27,00
4	37,00	30,00	50,00	33,00
5-a zi				
1	27,00	30,00	33,00	33,00
2	23,00	43,00	43,00	27,00
4	37,00	30,00	50,00	33,00

După cum se observă, din datele prezentate în tab. 1, în general, semințele tratate cu biostimulatori prezintă o facultate germinativă mai mare comparativ cu grupul de control. De exemplu, pentru varianta experimentală cu concentrația de 4% biostimulatori cu expunerea semințelor la tratare timp de 4 ore, la a treia zi, se înregistrează o rată de germinare de 50%, față de

doar 33% 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 menționat că semințele menținute în condiții de colecție, chiar și în condițiile de biostimulare, atestă valori ale facultății germinative de doar 50%. Acest fapt se explică suplimentar și prin aceea că tegument semințelor de *Galega orientalis* L. este destul de rigid și de aceea este necesară o perioadă mai mare de timp de expunere a semințelor în biostimulatori pentru a da posibilitatea pătrunderii acestora către embrion.

Rezultatele indicelui de germinare a semințelor de *Galega orientalis* L. tratate cu biostimulator indică, la fel, că cele mai semnificative rezultate se atestă în varianta cu 4% biostimulator cu expunerea la tratare de 4 ore (Tab. 2).

Tabelul 2

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

Perioada de tratare a semințelor, ore	Variantele experimentale			
	1%	2%	4%	Control
1	5,4	6,0	6,6	6,6
2	4,6	8,6	8,6	5,4
4	7,5	6,0	10,0	6,6

Tabelul 3

Alungirii relative a rădăcinii de *Galega orientalis* L. tratate cu biostimulator din lichidul cultural al cianobacteriei *Spirulina platensis*, %

Perioada de tratare a semințelor, ore	Variantele experimentale			
	1%	2%	4%	Control
1	2,3	1,5	2,0	1,5
2	2,2	2,4	2,6	1,9
4	2,0	2,2	2,0	1,7

Valorile alungirii relative a rădăcinilor atestă că în loturile în care semințele au fost tratate cu biostimulatori cianobacterieni se observă o tendință de creștere în lungime a sistemului radicular (cu diferențe de 0,7-1,1% comparativ cu variantele de control), ceea ce crează premiza de a constata că ar exista un potențial mai mare de creștere și dezvoltare a plantelor. Cele mai mari rezultate sau atestat în varianta semințelor tratate cu biostimulator cianobacterieni în concentrație de 4% cu expunerea la tratat timp de 2 ore (Tab. 3).

Concluzii

În rezultatul cercetărilor cantitative realizate sa constatat că tratarea semințelor de *Galega orientalis* L., menținute în condiții de colecție timp de 3 ani, cu biostimulator derivat din lichidul cultural al cianobacteriei *Spirulina platensis* a avut ca efect îmbunătățirea semnificativă a facultății germinative, a indicelui de germinare și puțin pronunțat a alungirii relative a rădăcinilor. Cea mai optimă concentrație de biostimulatori cianobacterieni cu efect major asupra germinării semințelor de *Galega orientalis* L. este de 4% cu expunerea semințelor la tratat timp de 4 ore unde sau atestat cele mai mari rezultate ale facultății germinative a semințelor (50,00%) și a indicelui de germinare a semințelor, calculat la a 5-a zi de experiment, (10,0) comparativ cu lotul de control (FG – 33,00% și IG- 6,6). Aceste rezultate sugerează că biostimulatorii cianobacterieni obținuți din lichidul cultural rezultat de la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* ar putea fi utilizați eficient pentru optimizarea germinării semințelor de *Galega orientalis* L. menținute în condiții de colecție, având

potențial în practicile agricole pentru îmbunătățirea performanțelor culturilor și pentru conservarea eficientă a genofondului speciei în condiții de colecții de semințe.

Referințe

1. <https://www.coherentmarketinsights.com/market-insight/spirulina-market-972>
2. <https://www.alliedmarketresearch.com/spirulina-market>
3. <https://www.globenewswire.com/news-release/2024/01/10/2806989/0/en/Spirulina-Market-Size-Share-to-Surpass-US-465-2-Million-by-2033-Report-by-Persistence-Market-Research.html>
4. Bivol, C. *Particularitățile fiziologo-biochimice și de cultivare ale microalgei verzi Dunaliella salina - sursă valoroasă de substanțe bioactive*. Teza dr. în biol., 2010. 135 p.
5. Горшкова, С.Г. *Galega L.* Флора СССР. М. Л.: Изд-во АН СССР, 1945, т. 11. с. 303–304.
6. Ярошевич, М.И., Вечер, Н.Н., Кухарева, Л.В. Интродукция *Galega orientalis* Lam. в Беларуси. In: *Теоретические и прикладные аспекты интродукции растений как перспективного направления развития науки и народного хозяйства. Матер. Междунар. науч. конф., посвященной 75-летию со дня образования ЦБС НАН Беларуси / НАН*, 2007, т. 1, с. 320–322.
7. Țiței V., Stavarache M. Some agrobiological peculiarities and fodder value of *Galega orientalis*, variety speranta. // *Congresul "International congress on oil and protein crops" Chișinău, Moldova*, 2018, p. 54.
8. Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M., Webb, D.A., Ball P.W., Chater A.O., Ferguson I.K. In: *Flora Europaea*. Vol. 2. *Rosaceae to Umbelliferae*. Cambridge University Press, 1968. 486 p.
9. Xu, L., Zhu, X.G., Bao, B., Zhang, M., Sun, H., Podlech, D., Welsh, S.L., Ohashi, H., Larsen, K., Brach, A.R. Tribe *Galegeae*. In: *Flora of China*. Vol. 10 (*Fabaceae*). Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden, St. Lois, pp. 322–511.
10. GILLER, K. E. *Nitrogen Fixation in Tropical Cropping Systems 2 nd edition*. CABI Publishing, 2001. 423 p.
11. Skerman, P.J., Cameron, D.G., Riveros, F. Tropical forage legumes. FAO Plant Production and Protection Series No. 2. FAO, 1988. 609 p.
12. 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.
13. 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. In: *Phytochemical Analysis*, 2002, 13(1), p. 8-17.
14. Bewley, J.D., Bradford, K.J., Hilhorst, H.W.M., Nonogaki, H. *Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy*, 2013, Springer.
15. Ellis, R.H., Hong, T.D., Roberts, E.H. *Handbook of Seed Technology for Genebanks: Volume I*. International Board for Plant Genetic Resources, 1985.