

# PROBIOTICE PENTRU PLANTE: ROLUL CONSORȚIILOR BACTERIENE ÎN STIMULAREA CREȘTERII PLANTULELOR DE *OCIMUM BASILICUM*

RALUCA BUZILĂ<sup>1</sup>, LIA-MARA DIȚU<sup>1,2,3</sup>, GENTIANA PREDAN<sup>1</sup>, MIOARA DUMITRAȘCU<sup>1</sup>, DANIELA LAZĂR<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultatea de Biologie, Universitatea din București, Departamentul de Botanică și Microbiologie, Facultatea de Biologie, Universitatea din București

<sup>2</sup>Centrul de cercetare MICROGEN, Facultatea de Biologie, Universitatea din București

<sup>3</sup>Institutul de Cercetare al Universității din București (ICUB)

## INTRODUCERE

Uleiurile esențiale, compuși naturali cu proprietăți antimicrobiene, reprezintă o alternativă promițătoare în combaterea agenților patogeni. Pentru a sprijini producția sustenabilă de plante aromatice, surse valoroase de uleiuri esențiale, este necesară reducerea dependenței de fertilizanții chimici, care pot avea efecte negative asupra mediului și consumatorilor. În acest sens, înlocuirea fertilizanților chimici cu soluții ecologice, precum probioticele pentru plante, reprezintă o strategie inovatoare și durabilă.

## SCOP

Investiga potențialul probiotic al unor consorții de tulpini bacteriene (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Pantoea agglomerans*, *Lactobacillus rhamnosus* și *Brevibacterium casei*) asupra creșterii și dezvoltării plantelor de *Ocimum basilicum* (busuioc), cunoscute pentru potențialul lor fitoterapeutic și capacitatea de a produce uleiuri esențiale cu activitate antimicrobiană.

## OBIECTIVE

1. Analiza influenței consorțiilor bacteriene asupra procesului de germinare a semințelor, prin determinarea energiei germinative;
2. Monitorizarea parametrilor morfologici și evidențierea rezistenței plantelor în momentul inducerii factorului de stres hidric;
3. Compararea biomasei vegetale între loturile experimentale, pentru a determina efectele tratamentelor asupra creșterii plantelor;
4. Analiza histo-anatomică a materialului vegetal pentru investigarea structurii tisulare și posibilelor modificări induse de tratamente.

## MATERIALE ȘI METODE

Cod consorțiu	Speciile bacteriene aflate în consorțiul bacteriene
BC	<i>Brevibacterium casei</i>
LB	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
BBP	<i>Bacillus cereus</i> (tulpina P2 4a2), <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pantoea agglomerans</i> (tulpina P4 4a3)
BBPL	<i>Bacillus cereus</i> (tulpina P2 4a2), <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pantoea agglomerans</i> (tulpina P4 4a3), <i>Lactobacillus rhamnosus</i>



Figura 1. Materialele utilizate pentru realizarea experimentului: A - semințe de *Ocimum basilicum*, B - soluție Knop, C - pământ universal, D - compoziția pământului universal

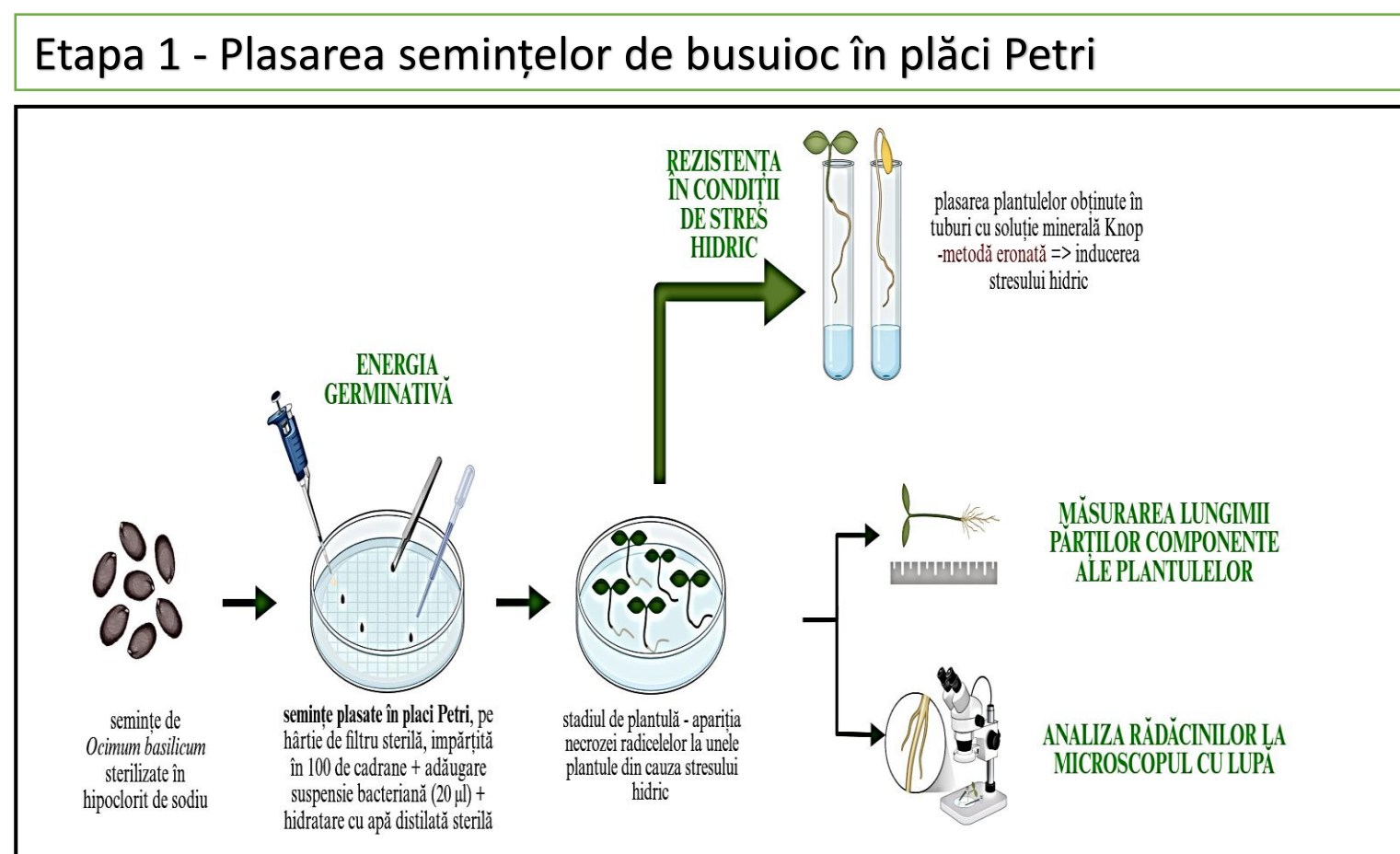


Figura 2. Parametri monitorizați în urma plasării semințelor de *Ocimum basilicum* în plăci Petri: energia germinativă, viabilitatea plantulelor în condiții de deficit nutritiv sau stres hidric, măsurarea și analiza părților componente ale plantulelor (imagine originală, BioRender)

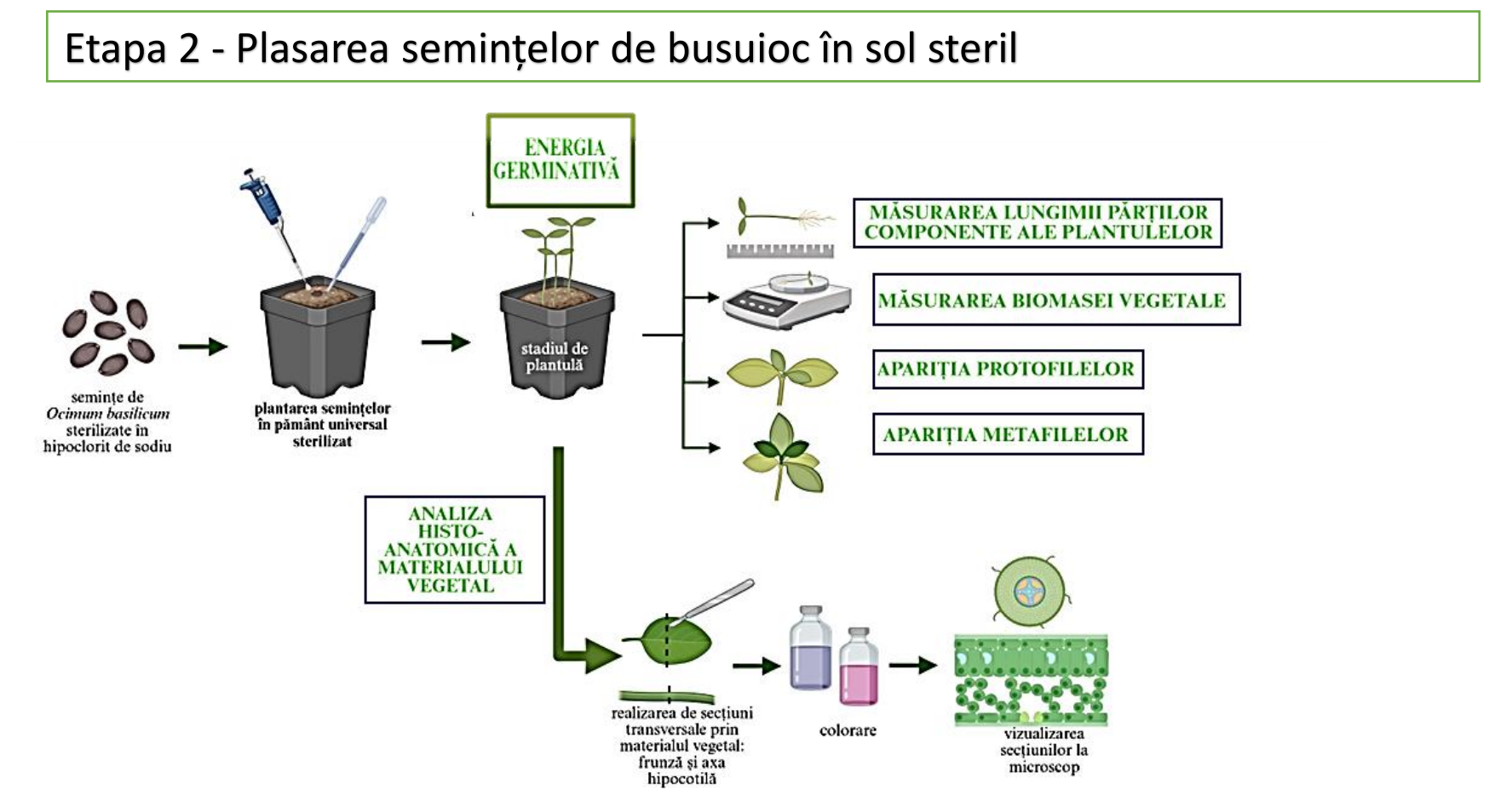


Figura 3. Parametri monitorizați în urma plasării semințelor de *Ocimum basilicum* în pământ steril: energia germinativă, măsurarea lungimii părților componente, biomasa vegetală, momentul apariției protofilor și metafilor, investigații histo-anatomice (imagine originală, BioRender)

## REZULTATE

### Obiectiv 1. Energia germinativă

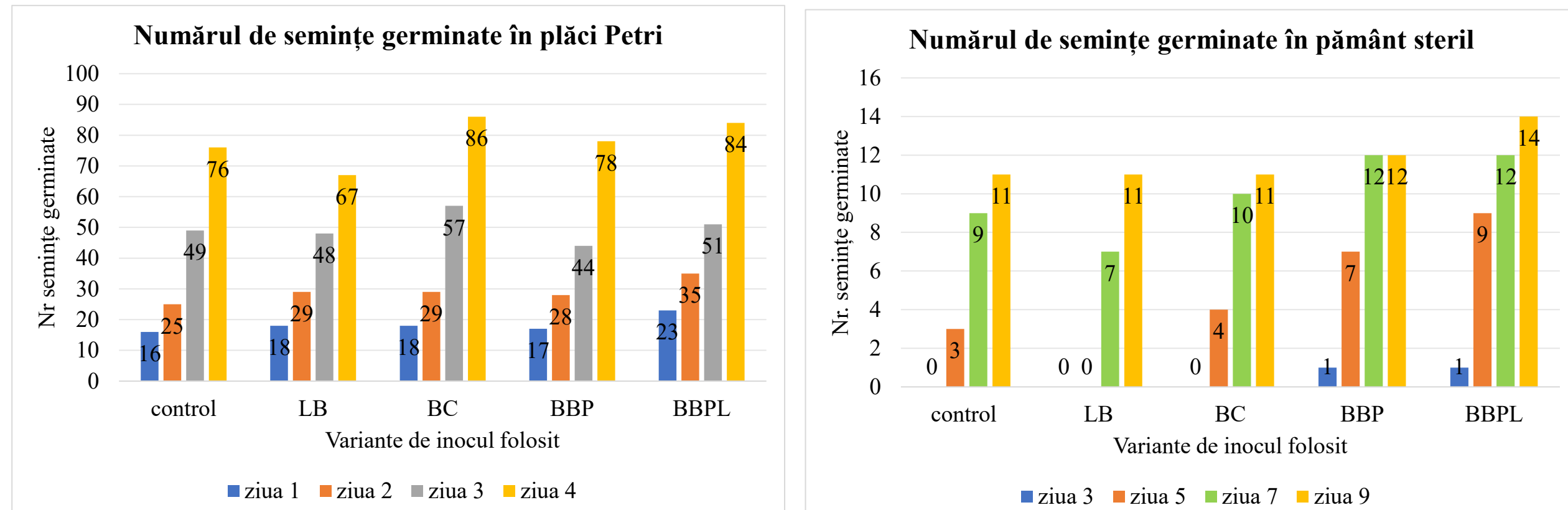


Figura 4. Numărul de semințe germinate pentru fiecare lot experimental pe parcursul celor patru zile de observare

Figura 6. Numărul de semințe germinate pentru fiecare lot experimental pe parcursul celor nouă zile de observare

### Analiza radicelelor la microscopul cu lupă



Fig. 5. Fotografii realizate în ziua a 5-a de la plasarea semințelor în plăci Petri. - Evidențierea unui stadiu mai avansat de dezvoltare a sistemului radicular în cazul plantulelor din lotul BBPL (*B. cereus*, *B. subtilis*, *P. agglomerans*, *L. rhamnosus*)

### Obiectiv 2. Parametri morfologici

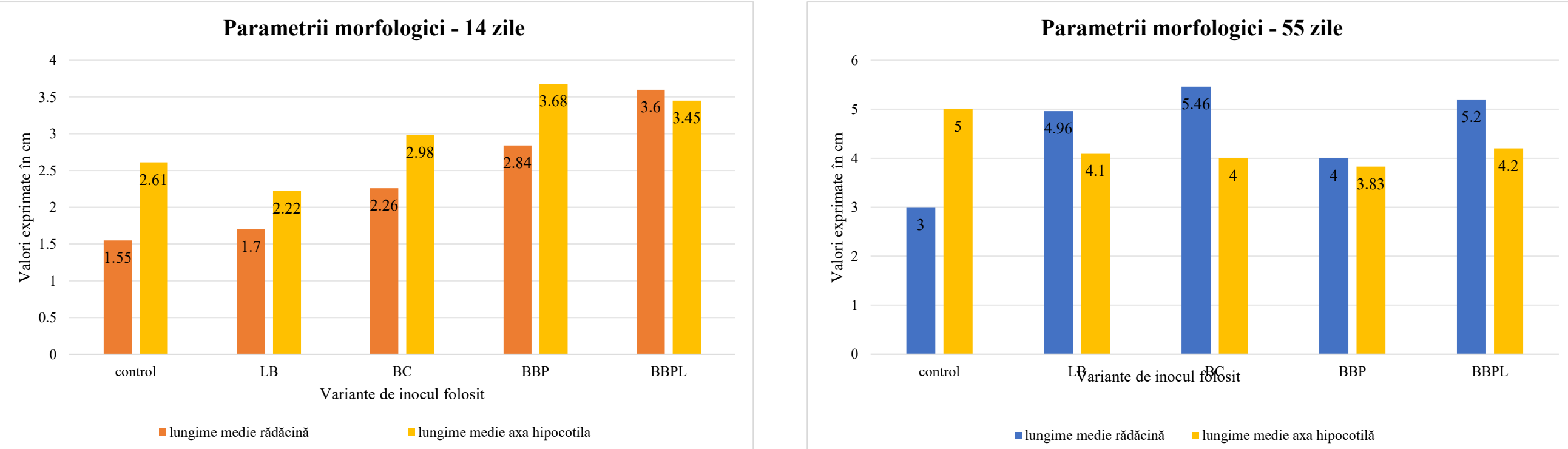


Figura 6. Evidențierea parametrilor morfologici a plantulelor din fiecare lot experimental la 14 zile de la plantare în pământ universal, evidențierea lungimii medii a sistemului radicular și a axei hipocotilului

Figura 7. Evidențierea parametrilor morfologici a plantulelor din fiecare lot experimental la 55 zile de la plantare în pământ universal, evidențierea lungimii medii a sistemului radicular și a axei hipocotilului

## DISCUȚII

- În urma acestui studiu a fost evidențiată eficiența utilizării suspensiilor bacteriene pentru sporirea ratei de creștere și dezvoltare a plantelor de *Ocimum basilicum* (busuioc) dar și prezența unei toleranțe mai mari a plantulelor tratate cu suspensii bacteriene la anumiți factori de stres abiotic (stres hidric, aport scăzut de lumină), în comparație cu plantulele din lotul martor.
- Dintre toate variantele experimentale, cele mai semnificative efecte benefice au fost observate în cazul lotului tratat cu suspensia mixtă conținând *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Pantoea agglomerans* și *Lactobacillus rhamnosus* (BBPL), sugerând un posibil efect sinergic între aceste tulpini. Deși variantele experimentale BBP (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Pantoea agglomerans*) și LB (*Lactobacillus rhamnosus*) au prezentat la rândul lor rezultate pozitive, performanța acestora nu o depășește pe cea a lotului BBPL.
- Conform unui studiu publicat de Santoyo, G. și colab. (2021), consorțiile bacteriene s-au dovedit a fi mai eficiente decât tulpinile individuale în stimularea trăsăturilor benefice ale plantelor, datorită acoperirii unui spectru mai larg de mecanisme implicate în promovarea creșterii vegetale.
- Analiza histo-anatomică a evidențiat un stadiu de dezvoltare mai avansat în cazul plantulelor tratate cu *Brevibacterium casei*, însă, din cauza stadiului incipient de dezvoltare al plantelor în momentul recoltării, interpretarea detaliată a efectelor bacteriilor asupra structurii interne rămâne limitată. Pentru validarea acestor observații și conturarea unor concluzii mai solide, ar fi necesară extinderea duratei experimentului.

## CONCLUZII

- Rezultatele obținute în urma acestui studiu susțin ideea că utilizarea consorțiilor bacteriene cu potențial probiotic poate reprezenta o alternativă viabilă și sustenabilă la fertilizanții chimici tradiționali.
- Administrarea acestor consorții bacteriene a condus la îmbunătățirea procesului de germinare, la accelerarea dezvoltării plantulelor de *Ocimum basilicum*, precum și la o mai bună toleranță la factori de stres abiotic, precum deficitul de apă și lipsa parțială a luminii.
- Având în vedere că *Ocimum basilicum* este o specie valoroasă din punct de vedere fitoterapeutic, datorită conținutului ridicat de uleiuri esențiale cu efect antibacterian, stimularea dezvoltării plantelor prin metode biologice poate contribui la obținerea unei biomase vegetale mai mari, ceea ce implică în mod direct o producție crescută de compuși activi.
- Astfel, utilizarea probioticelor microbiene nu doar că reduce impactul ecologic al fertilizării chimice, dar susține și optimizarea culturilor de plante aromatice și medicinale în mod durabil și eficient.

### Obiectiv 2. Rezistența la condiții de stres



Figura 8. Evidențierea fenomenului de etiolare

În prezența condițiilor de stres hidric, plantele tratate cu suspensii bacteriene de *Bacillus cereus* + *Bacillus subtilis* + *Pantoea agglomerans* (BBP) și *Bacillus cereus* + *Bacillus subtilis* + *Pantoea agglomerans* + *Lactobacillus rhamnosus* (BBPL) au evidențiat un grad de rezistență mai ridicat comparat cu celelalte loturi experimentale

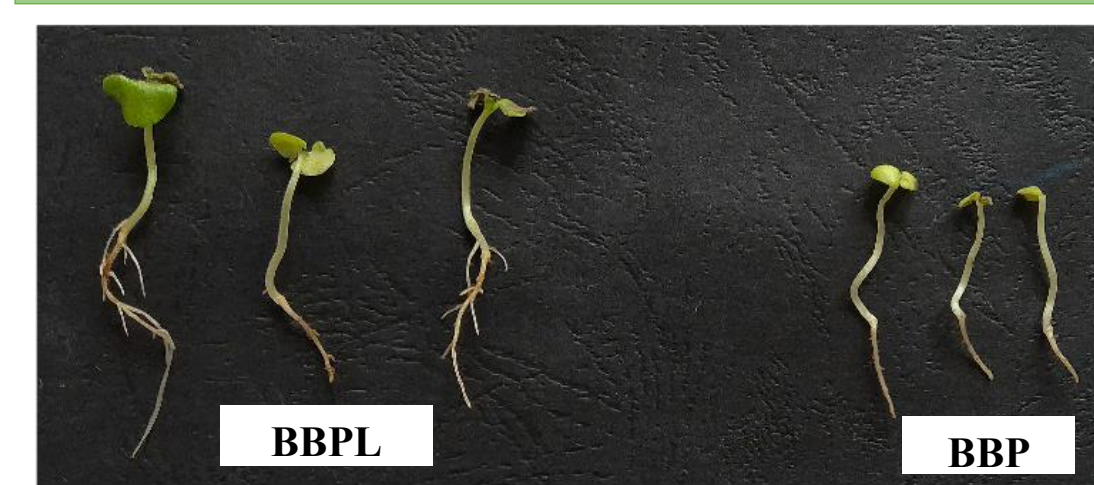


Figura 9. Diferențele dintre loturile BBP și BBPL

### ETIOLARE

Răspuns adaptativ manifestat prin alungirea axei hipocotile

Stres hidric (imposibilitatea de a controla constant păstrarea radiclelor imersate în apă)

Lipsa nutrienților esențiali → NECROZĂ (hidratat doar cu apă distilată sterilă)

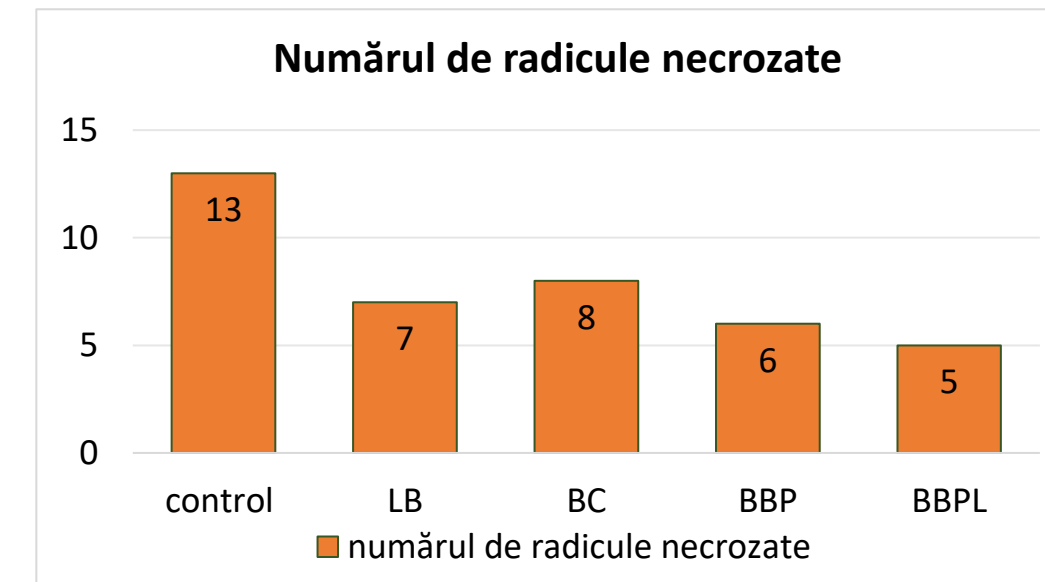


Figura 10. Numărul de radicle necrozate specifice fiecărui lot experimental

Procentul de plante cu semne de necroză la nivelul radiclei, din totalul de semințe germinate specific fiecărui lot experimental:

- ADS: 9,8%
- LB: 4,69%
- BC: 6,88%
- BBP: 4,68%
- BBPL: 4,2%

### Obiectiv 2. Rata de dezvoltare a frunzelor

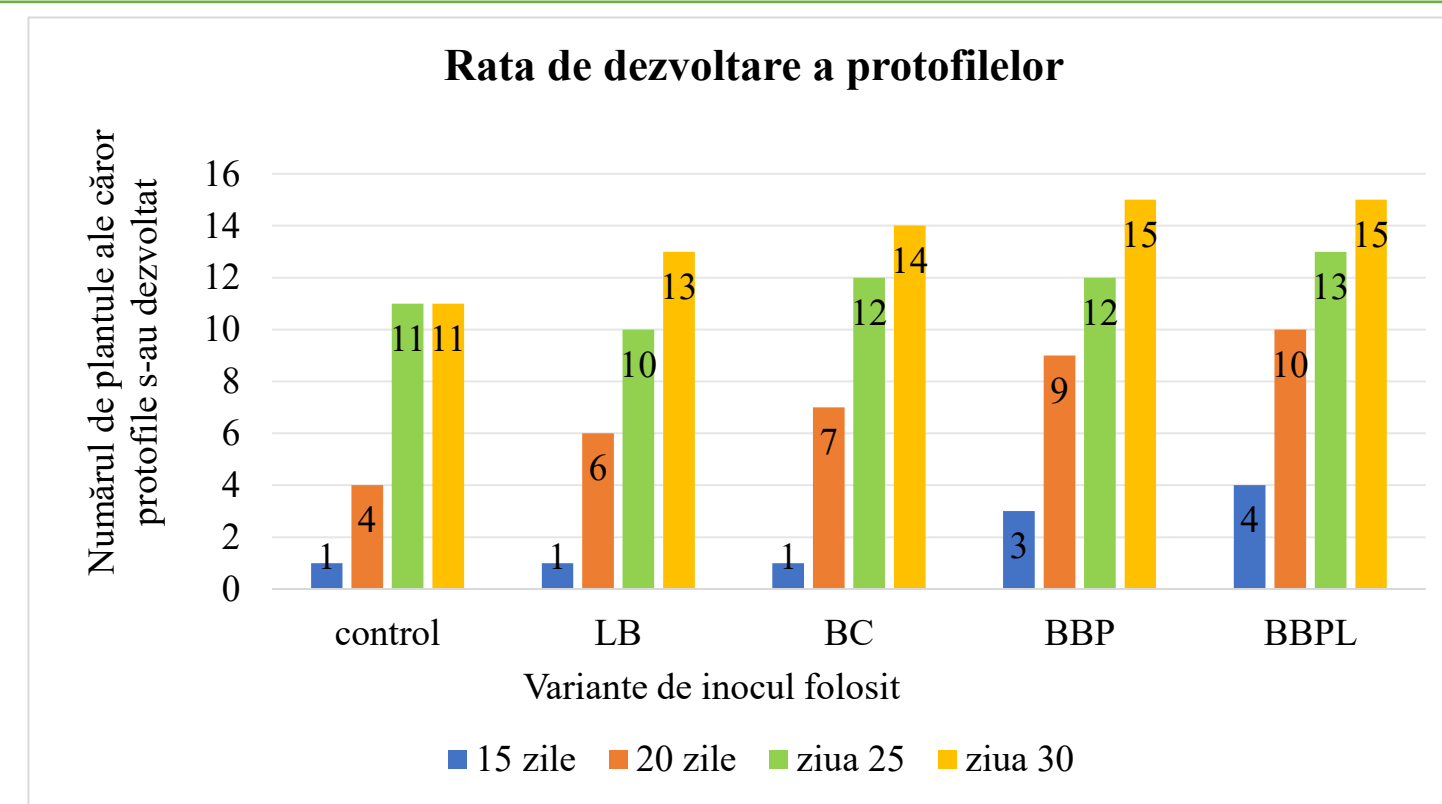


Figura 11. Rata de dezvoltare a protofilor pe parcursul a 15 zile de observații



Figura 12. Aspectul plantulelor din fiecare lot experimental la 30 de zile de la plantare în pământ universal, evidențierea dezvoltării protofilor

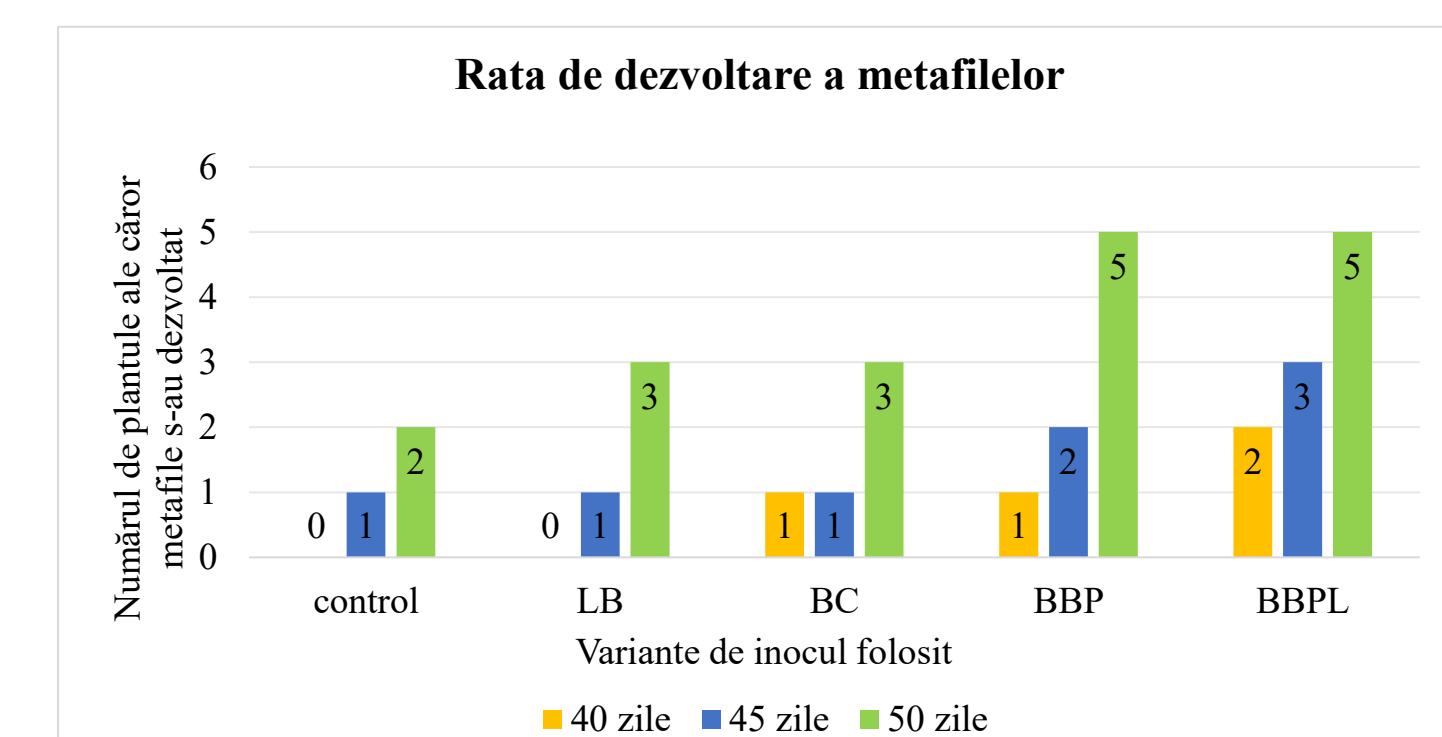


Figura 13. Rata de dezvoltare a metafilor pe parcursul a 10 zile de observații



Figura 14. Aspectul plantulelor din fiecare lot experimental la 50 de zile de la plantare în pământ universal, evidențierea dezvoltării metafilor

### Obiectiv 3. Biomasa părților componente ale plantelor de busuioc

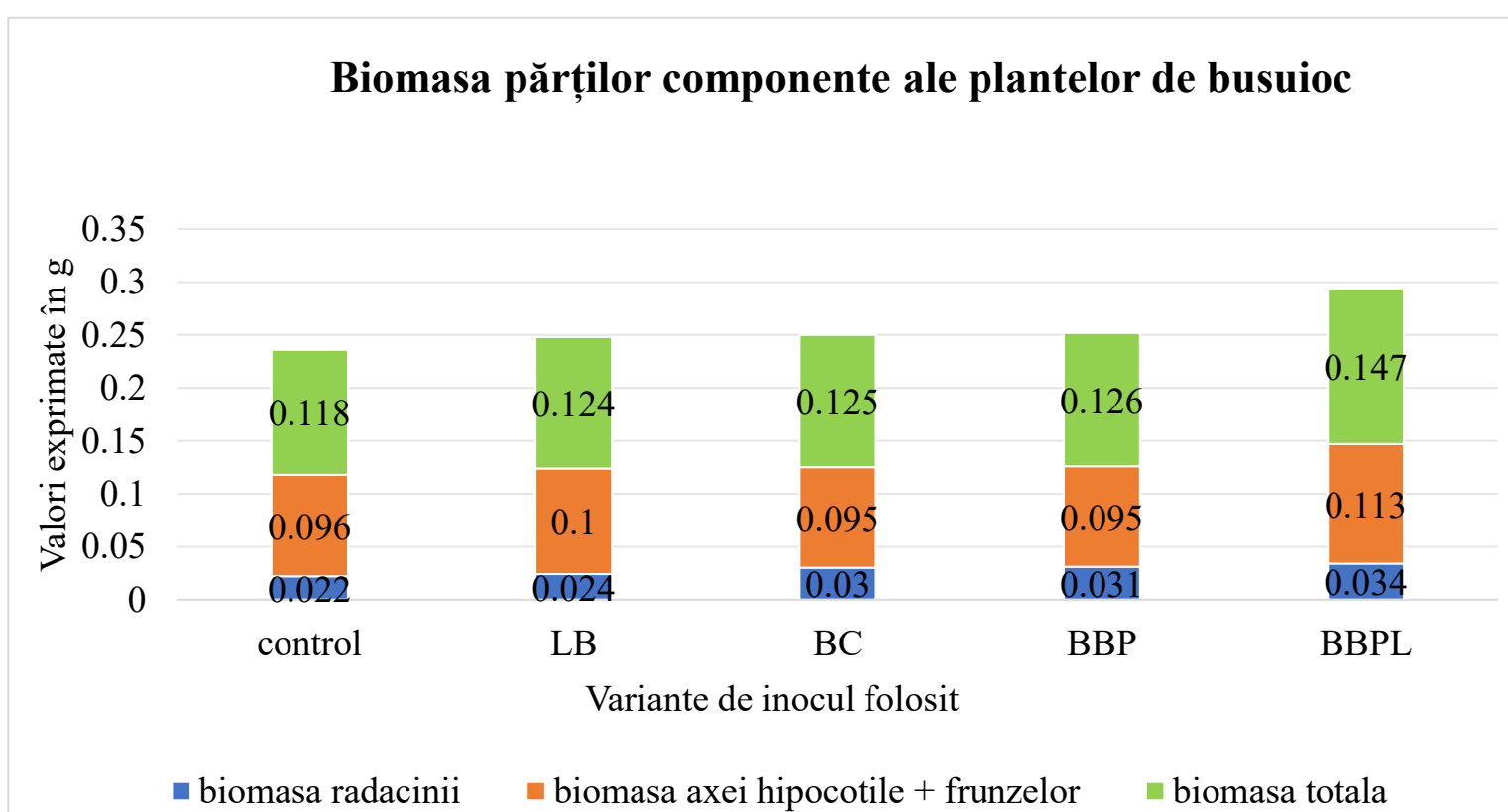


Figura 15. Evidențierea acumulării de biomasa vegetală pentru fiecare lot experimental

### Obiectiv 4. Analiza histo-anatomică a materialului vegetal

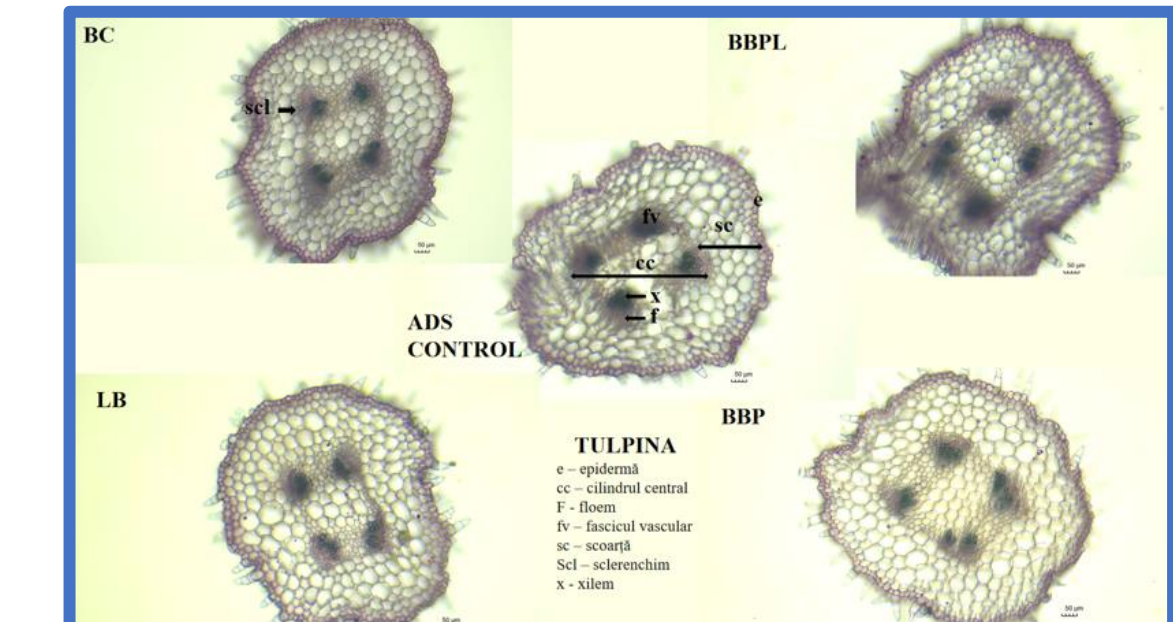


Figura 16. Secțiuni transversale prin tulpina plantulelor, evidențierea zonelor histo-anatomice

Stadiu incipient de dezvoltare => nu sunt evidențiate diferențe semnificative  
 Exceptie: lotul BC, unde începe schimbarea sclerenchimului la exteriorul fascicului, în dreptul floemului, ceea ce demonstrează un stadiu de dezvoltare mai avansat decât toate celelalte loturi

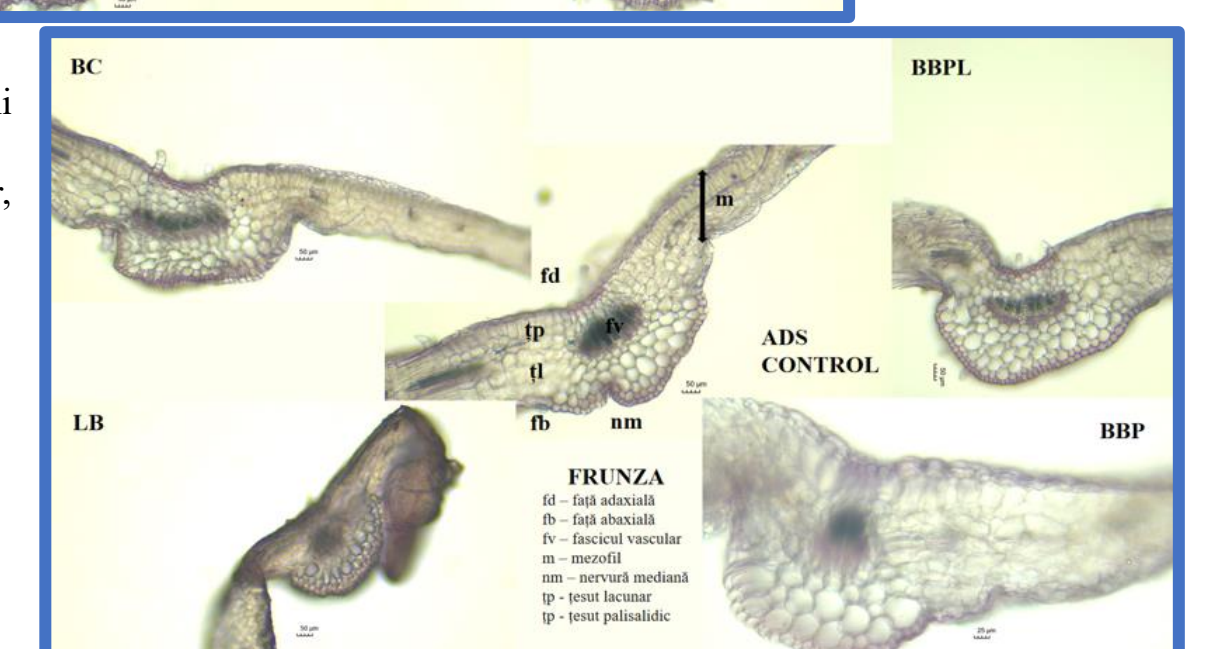


Figura 17. Secțiuni transversale prin frunza plantulelor, evidențierea zonelor histo-anatomice