EVALUAREA PERFORMANȚELOR DE CREȘTERE A CIANOBACTERIEI *NOSTOC GELATINOSUM* SCHOUSBOE EX BORNET & FLAHAULT CULTIVATĂ PE DIFERITE MEDII NUTRITIVE

EVALUATION OF THE GROWTH PERFORMANCE OF THE CYANOBACTERIA *NOSTOC GELATINOSUM* SCHOUSBOE EX BORNET & FLAHAULT CULTIVATED ON DIFFERENT NUTRIENT MEDIA

CZU: 582.232:631.461.5 **https://doi.org/10.59295/spd2025e.06**

Sergiu DOBROJAN
ORCID: 0000-0003-0040-5836
E-mail: sergiudobrojan84@yahoo.com
Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

Galina DOBROJAN
ORCID: 0009-0003-1629-2220
E-mail: galinadobrojan87@gmail.com
Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

Summary. *The growth performance of the cyanobacterium Nostoc gelatinosum is dependent on the composition of the nutrient medium. Mediums rich in macro- and microelements favored rapid biomass accumulation and accelerated the growth cycle, in contrast to the deficient medium, which limited cell mass production but stimulated the dimensional expansion of vegetative cells without causing morphological abnormalities. Periodic observations revealed a self-regulating mechanism of cell dimensions, in which the alternation of expansion and contraction phases respects the fundamental biological principles of development. These results emphasize the applicability of these media both for the efficient obtaining of biomass for biotechnological purposes and for the stable maintenance of cultures in collections.*

Keywords: *biomass, cellular autoregulation, growth cycle, Nostoc gelatinosum, nutrient medium.*

INTRODUCERE

Conform actualelor clasificări specia *Nostoc gelatinosum* Schousboe ex Bornet & Flahault, conform redenumirii acceptate de curând, face parte din filumul *Cyanobacteria*, clasa *Cyanophyceae*, subclasa *Nostocophycidae*, ordinal *Nostocales*, familia *Nostocaceae*, genul *Nostoc*. Specia formează colonii inițial umflate-tuberculate, de mărimea unei măsline, apoi răspîndite neregulat, de culoare marou, fără un periderm puternic. Lanțurile de trihomi de obicei sunt aranjate vag, tecile fiind conservate bine doar la periferiile coloniei, de culoare brun-gălbuie. Celulele sunt de obicei cilindrice alungite cu

lățimea de aproximativ 4 μ și 5-10 μ lungime. Heterocistele sunt elipsoidale, cu lățimea de aproximativ 5 μ și 5-10μ în lungime. Sporii sunt alungiți, cu lățimea de 6-8 μ și 8-14 μ în lungime, cu înveliș marou și dur (fin spinos). Specia a fost depistată în Italia, Africa, America de Nord, și preferă solurile umede și stînci umede mai rar în izvoare calde [1]. Cercetările recente realizate în regiunea unei pajiști din India au evidențiat existența speciei *N. gelatinosum* în biotop de rînd cu alte 10 specii de cianobacterii din genul *Nostoc* [2].

Interesul cultivării speciei este argumentat de posibilitatea utilizării biomasei în agricultură ca biofertilizant, deoarece specia are proprietatea de fixare biologică a azotului atmosferic și de rezistență la condițiile de secetă o perioadă îndelungată de timp, în biotehnologie datorită acumulării în biomasă a substanțelor biologic active foarte importante pentru om și animale (vitamine, proteine și diverși acizi grași importanți) [3, 4]. Biomasa cianobacteriiilor din genul *Nostoc* este importantă și poate fi valorificată în medicină pentru obținerea preparatelor medicinale cu utilitate în tratamentul gutei și al unor forme de cancer, a sistemului nervos, previn bolile neurodegenerative și tulburările mintale și sunt utilizați pentru prevenirea bolilor cardiovasculare și a diverselor infecții [5, 6, 7].

Un interes deosebit al cultivării acestei specii este legat de capacitarea acesteia de fixare biologică a azotului și beneficiile obținute atât asupra solului cât și asupra plantelor de cultură la aplicarea în calitate de biofertilizant. La aplicarea biomasei de *N. gelatinosum* în doza de 12 kg/ha la cultivarea florii soarelui și porumbului în condiții de câmp sa atestat majorarea înălțimii plantelor cu 1-5 cm și a recoltei cu 30-400 kg/ha [8]. Biomasa acestei specii poate fi aplicată și în alte domenii cum ar fi: farmaceutică, cosmetologie, alimentație, protecția mediului și industrie.

Pentru obținerea biomasei de *Nostoc punctiforme* cu potențial de utilizare în practică, este necesar ca, în condiții de laborator, să se identifice metoda de cultivare, mediul nutritiv și condițiile optime (iluminare, agitare, temperatură etc.). Unul dintre principalii factori care determină acumularea biomasei cianobacteriene este selectarea mediului nutritiv optim de cultivare și, de aceea, ne-am propus ca, în prezentul studiu, să selectăm mediul nutritiv optim pentru *N. punctiforme* în scopul obținerii unei biomase majore, care ulterior va putea fi valorificată în diverse domenii.

MATERIAL ȘI METODĂ

Tulpina cianobacteriei *Nostoc gelatinosum* folosită în cercetări este din colecția LCȘ „Algologie V. Șalaru” a Universității de Stat din Moldova. Cianobacteria a fost cultivată, conform metodei periodice, pe medii nutritive specifice: M.S. Taha (M), Kratz și Myers (C), Detmer modificat (De), Drew (Dr) cu componența indicată în tab. 1.

Temperatura din laboratorul de cultivare pe parcursul experimentelor a fost de 25 °C, iluminarea continuă de 3000 lux, iar probele experimentale nu au fost agitate periodic. Experimentele au fost efectuate în baloane Erlenmeyer cu un volum de 100 ml, volumul mediului nutritiv fiind de 100 ml, iar cantitatea inoculului algal de 0,04 g (sau 0,4 g/l). Toate experimentele au fost realizate în trei repetări.

Tabelul 1. Componența mediilor nutritive utilizate la cultivarea cianobacteriei *N. gelatinosum*

Ingredientul	Mediul nutritiv			
	M	**C**	**De**	**Dr**
$MgSO_4*7H_2O$, g/l	0,25	0,25	0,55	0,20
$Ca(NO_3)_2*4H_2O$, g/l	-	-	1	-
K_2HPO_4, g/l	1,00	0,04	0,26	0,20
KCl, g/l	-	-	0,5	-
EDTA*2Na, g/l	-	-	0,2	-
$CaCl_2*6\ H_2O$, g/l	0,0238	0,0238	-	urme
$FeCl_3$	-	-	-	urme
$FeSO_4*7H_2O$, g/l	-	-	0,02	-
$Fe_2(SO_4)_3$, g/l	0,003	0,02	-	-
$Na_3C_6H_5O_7$, g/l	0,165	0,165	-	-
Microelemente, ml	1 ml	1 ml		-

Notă: 1. semul "-" indică lipsa ingredientului. 2. Componența microelmentelor pentru mediile nutritive M și C (g/l) - H_3BO_3 – 2,86; $MnCl_2*4H_2O$ – 1,81, $ZnSO_4*7H_2O$ – 0,222; $Na_3MoO_4*2H_2O$ – 0,252; $CuSO_4*5H_2O$ – 0,079. 3. Componența microelementelor pentru mediul D (g/l) - H_3BO_3 – 0,0029; $ZnCl_2$- 0,00011, $MnCl_2*4H_2O$ – 0,00181, $(NH_4)_6MoO_{24}*4H_2O$ – 0,000018; $CuSO_4*5H_2O$ – 0,00008.

Determinarea productivității cianobacteriei

Productivitatea algală a fost determinată utilizând metoda diferențială, aplicată astfel: inițial, printr-un filtru curat se filtrează, utilizând pompa de extragere în vid (model VE-115 SV), un volum de 50 ml apă distilată, după care filtrul se cântărește pe un cântar analitic (Axis). După cântărire, prin același filtru se filtrează (cu ajutorul pompei de extragere în vid) mediul nutritiv cu biomasa algală.

Productivitatea algală (P) a fost determinată utilizând următoarea formulă:

$$P=\frac{Mfb-Mfg*10}{1000}\ \textbf{(g/l)}$$

Unde:

Mfb – masa filtrului cu biomasa algală (mg);

Mfg – masa filtrului gol prin care sa trecut apa distilată (mg);

10 – pentru recalcularea volumului la 1l;

1000 – recalculul biomasei din mg în g.

Intensitatea creșterii cianobacteriei a fost stabilită conform următorilor indicatori:

- Viteza de creștere a populației algale (Vcp) a fost determinată conform metodei descrisă [9].

- Coeficientul de reproducere a algei (Cr) a fost stabilit după formula propusă [10].

A fost determinate modificările morfologice ale celulelor vegetative, lungimea și lățimea celulelor conform metodelor specifice cu utilizarea microscopului ”optica” [11].

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Compoziția mediului nutritiv reprezintă un determinant major al creșterii și dezvoltării culturilor, influențând direct acumularea biomasei cianobacteriene și stabilitatea culturii în condiții axenice.

Tabelul 2. Productivitatea cianobacteriei *N. gelatinosum* cultivată pe diferite medii nutritive, g/l

Perioada analizată, zile	**Mediul nutritiv**			
	M	**C**	**De**	**Dr**
1	0,4±0,02	0,4±0,02	0,4±0,02	0,4±0,02
3	1,8±0,08	1,5±0,06	1,4±0,03	0,7±0,03
6	3,5±0,17	3,0±0,14	2,9±0,14	1,1±0,04
9	4,88±0,2	4,52±0,2	4,01±0,2	1,40±0,04
12	6,20±0,29	5,99±0,20	5,90±0,20	3,08±0,15

Rezultatele cantitative a biomasei cianobacteriei cercetate indică că cultura sa aflat în faza exponețială de creștere în toate variantele experimentate. Medii nutritive utilizate la cultivare care au în componența lor mai multe macro și microelemente au generat acumularea unei cantități mai înalte de biomasă. Acest fapt se argumentează prin prezența și satisfacerea necesarului de substanțe nutritive a celulelor populației de *N. gelatinosum* din mediul nutritive M, C și De, biomasa cianobacteriei obțiută pe aceste medii nutritive a variat între 5,90±0,20 - 6,20±0,29 g/l. Mediul nutritive Dr fiind dificitar în macro și microelemente a contribuit la acumularea unei cantității mici de biomasă (3,08±0,15 g/l) aceasta fiind mai potrivit pentru menținerea culturii în colecții unde nu este necesară

acumularea unei cantități majore de biomasă ci doar asigurarea existenței specie (Tab. 2). Ține de menționat că datorită specificului fiziologic al specie cercetate o mare parte din biomasă acesteia este constituită din apă ceea ce face ca rezultatele obținute să fie relativ mai mici în situația recalculului la biomasă absolut uscată însă rămîne respectabilă legitatea dependenței cantitative a biomasei cianobacteriei *N. gelatinosum* de sursa, componența, combinația și concentrația substanțelor nutritive necesare pentru nutriție și accelerarea procesului de creștere (Tab. 3).

Tabelul 3. Valorile indicatorilor de creștere a populație de *N. gelatinosum* cultivată pe diferite medii nutritive, g/l

Perioada analizată, zile	Mediul nutritiv utilizat la cultivare							
	M		C		De		Dr	
	μ	Cr	μ	Cr	μ	Cr	μ	Cr
3	0,70±0,03	4,50±0,19	0,55±0,02	3,75±0,15	0,50±0,01	3,50±0,07	0,15±0,01	1,75±0,07
6	0,57±0,02	1,94±0,07	0,50±0,02	2,00±0,09	0,50±0,02	2,07±0,10	0,13±0,00	1,57±0,06
9	0,46±0,02	1,39±0,06	0,51±0,02	1,51±0,07	0,37±0,02	1,38±0,07	0,10±0,00	1,27±0,04
12	0,44±0,02	1,27±0,06	0,49±0,02	1,32±0,04	0,63±0,02	1,47±0,05	0,56±0,03	2,20±0,11

Tabelul 3 prezintă valorile indicatorilor de creștere a populației de *Nostoc gelatinosum* cultivate pe mediile nutritive cercetate pe parcursul unei perioade de 12 zile. Cei doi parametri urmăriți au fost rata specifică de creștere (μ) și coeficientul de reproducere (Cr), exprimați în g/l. La începutul perioadei de cultivare, în ziua a 3-a, se observă că mediul M a susținut cea mai intensă activitate de multiplicare celulară, cu o valoare a vitezei de creștere a populației de 0,70 și a coeficientului de reproducere de 4,50 g/l, indicând un mediu nutritiv foarte eficient pentru inițierea dezvoltării. Mediile C și De au susținut, de asemenea, o creștere moderată, în timp ce în mediul Dr valorile ambilor indicatori au fost semnificativ mai mici, ceea ce sugerează o adaptare întârziată a culturii la acest mediu. Pe măsură ce cultura a evoluat în timp, în zilele 6 și 9, se constată o tendință generală de scădere a ratei μ, indicând o reducere a intensității diviziunii celulare. Cu toate acestea, valorile Cr au rămas relativ stabile, sugerând că biomasa s-a acumulat în continuare, posibil datorită extinderii dimensiunii celulelor sau acumulării compușilor intracelulari. În ziua a 12-a, se remarcă o inversare în cazul mediului Dr, unde, în ciuda unei rate μ inițial foarte reduse, coeficientul de reproducere a atins valoarea de 2,20 – cea mai mare dintre toate mediile la acest moment – sugerând o adaptare târzie, dar eficientă. Mediul De a

prezentat, de asemenea, o creștere notabilă a biomasei, cu o valoare a Cr de 1,47, în timp ce mediile M și C au înregistrat o ușoară reducere a performanței, comparativ cu valorile inițiale. Respectiv constatăm că pentru accelerarea vitezei de creștere și a reproducerii populației de *N. gelatinosum* cele mai preferențiale sunt mediile nutritive M și C.

Un alt indicator important care ne permit să diagnosticăm starea culturii și în deosebi starea fenologică sunt parametrii dimensionali care sunt caracteristici fundamentale și integrale ale specie.

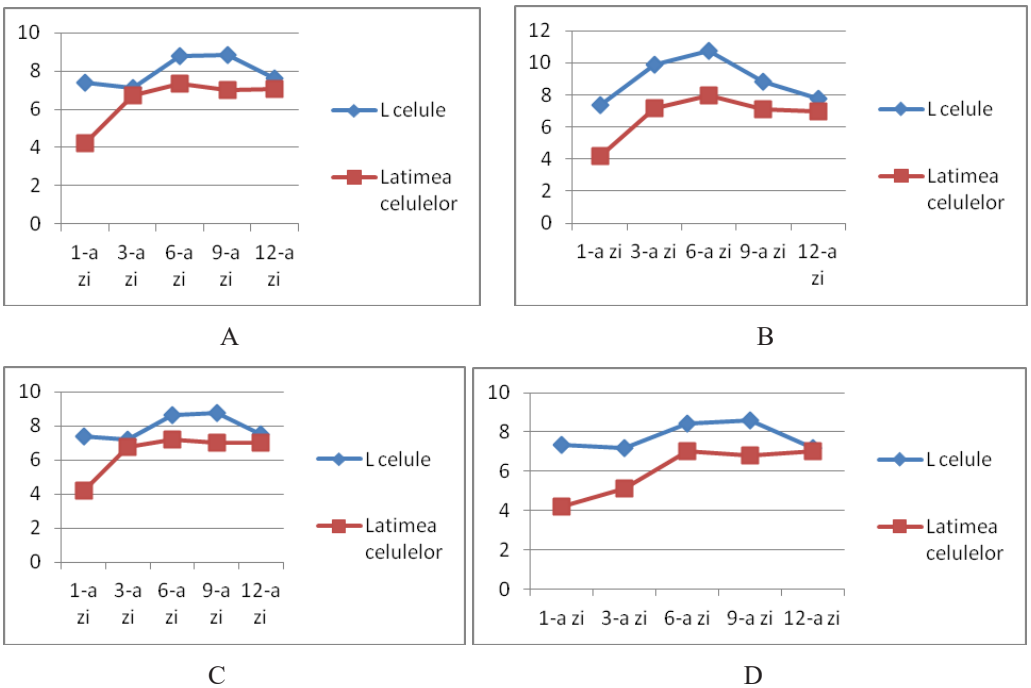


Fig. 1. Modificările morfologice ale celulelor vegetative ale cianobacteriei N. gelatinosum cultivate pe diferite medii nutritive (µm). (A – mediul nutritiv De; B – mediul nutritiv Dr; C – mediul nutritiv C; D – mediul nutritiv M)

Analiza modificărilor morfologice ale celulelor vegetative ale cianobacteriei *N. gelatinosum* cultivate pe diferite medii nutritive a scos în evidență că, la cultivarea pe mediul nutritiv Drew, se atestă dimensiuni mai mari ale celulelor vegetative, în special ale lungimii acestora, caracterizate prin valori mai mari cu 1–2,55 µm comparativ cu cultivarea pe celelalte medii nutritive studiate. Acest fapt indică prezumția că lipsa unor micro- și macroelemente din mediul nutritiv de cultivare a cianobacteriilor contribuie la apariția modificărilor morfologice, care se manifestă în special prin majorarea dimensiunilor celulelor vegetative.

Ține de menționat că, pe celelalte medii nutritive cercetate (M, C și De), se ates-

tă dimensiuni ale celulelor vegetative cu diferențe neesențiale (de până la 1 μm). De asemenea, pe toate mediile nutritive cercetate, populația de *N. gelatinosum* își menține etapele succesive ale ciclului vegetal, însă viteza de derulare a acestor cicluri diferă în funcție de mediul nutritiv aplicat la cultivare. Pe mediul Drew, aceasta s-a manifestat mult mai lent, ceea ce ne permite să constatăm că nivelul de asigurare cu substanțe nutritive influențează dezvoltarea individuală a celulelor vegetative și desfășurarea ciclului vegetativ. Ține de menționat că, în unele zile de analiză, pe toate mediile nutritive examinate, lățimea celulelor a prezentat dimensiuni mai mari decât cele specifice speciei, depistate în natură și indicate în determinatoarele vechi de specialitate. Majorarea lățimii celulelor nu a cauzat apariția unor anomalii morfologice, acest fapt fiind cauzat, cel mai probabil, de efectele cultivării speciei în condiții de laborator, care generează, în multe cazuri, devieri dimensionale comparativ cu cele din mediul natural.

Indiferent de compoziția mediului nutritiv de cultivare experimentat, s-a constatat că dimensiunile celulelor vegetative ale cianobacteriei *N. gelatinosum* sunt autoreglabile: ele cresc până la o anumită limită, apoi descresc, proces care se repetă continuu. Acest fenomen respectă legitățile biologice ale creșterii dimensionale specifice practic tuturor organismelor vii, fiind strâns legat de ciclul vital și, în special, de reproducerea celulelor.

CONCLUZII

Creșterea populației de *N. gelatinosum* este direct dependentă de compoziția mediului nutritiv, mediile M, C și De favorizând acumularea unor cantități semnificative de biomasă (5,90 ± 0,20–6,20 ± 0,29 g/L) în 12 zile, concomitent cu accelerarea ratei de creștere și a coeficientului de reproducere. Mediul Drew, deficitar în macro- și microelemente, reduce randamentul biomasei (3,08 ± 0,15 g/L), însă induce o creștere semnificativă a dimensiunii celulelor vegetative (lungime +1–2,55 μm față de celelalte medii), fără a genera anomalii morfologice. În toate condițiile experimentale, celulele vegetative ale *N. gelatinosum* își autoreglează dimensiunile, creșterile și descreșterile periodice respectă legitățile biologice de dezvoltare dimensională atestând versatilitatea acestor medii atât pentru producția de biomasă, cât și pentru menținerea culturilor în colecții.

REFERINȚE:

1. ЕЛЕНКИН, А. *Синезеленые водоросли СССР, специальная часть 1.* Из. Акад. Наук СССР, 1938. 984 с.
2. KUMAR, S., KANT, R. Diversity of the cyanobacterial genus *Nostoc vaucher* of grassland biotope, meerut, uttar pradesh, bharat. În: *Plant Archives* Vol. 23, No. 2, 2023. p. 320-326, https://doi.org/10.51470/PLANTARCHIVES.2023.v23.no2.055
3. DODDS, W., GUDDER, D., MOLLENHAUER, D. The ecology of Nostoc. În: *Journal of Phycology* 31(1), 1995. p. 2–18.

4. TEMINA, M., REZANKOVA, H., REZANKA, T., DEMBITSKY, V. Diversity of the fatty acids of the Nostoc species and their statistical analysis. În*: Microbiological research* 162(4), 2007. p. 308–321.
5. JANDACEK, R. Linoleic acid: a nutritional quandary. În: *Healthcare* 5 (2): 2017. p. 25.
6. LIAU, M., KIM, J., & FRUEHAUF, J. Arachidonic acid and its metabolites as surveillance differentiation inducers to protect healthy people from becoming cancer patients. În: *Clin Pharmacol Toxicol Res* 4(1), 2021. p. 7-10.
7. ROACH, L., RUSSELL, K., LAMBERT, K., HOLT, J., MEYER, B. Polyunsaturated fatty acid food frequency questionnaire validation in people with end stage renal disease on dialysis. În: *Nutrition & Dietetics* 77(1): 2020, p. 131-138.
8. DOBROJAN, S., JIGĂU, GH., DOBROJAN, G., CIOLACU, T., MELNIC, CR. The premises for using the biomass of the cyanobacteria Nostoc gelatinosum (Schousb) Elenk. as a biofertilizer. În: *Natural sciences in the dialogue of generations,* 2023. p. 94. ISBN 978-9975-3430-9-1.
9. ПЕРТ, С. *Основы культивирования микроорганизмов.* Москва, Мир, 1978. 1-33 с.
10. ВЛАДИМИРОВА, М., СЕМЕНЕНКО, В. *Интенсивная культура одноклеточных водорослей.* Москва, Изд. АН СССР, 1962, 1-58 с.
11. МИНИЧЕВА, Г., ЗОТОВ, А., КОСЕНКО, М. *Методические рекомендации по определению морфофункциональных показателей одноклеточных и многоклеточных форм водной растительности.* În: Одесса, 2003, 32 с.

Nota bene: *articolul este realizat în cadrul proiectului tineret: „Valorificarea cianobacteriilor azot fixatoare din genul Nostoc la cultivarea durabilă a plantelor medicinale” cifrul proiectului 23.70105.7007.07T*