CULTIVAREA ALGEI *NOSTOC FLAGELLIFORME* (BERK ET. CURT) ELENK. DUPĂ METODA SEMICONTINUĂ

Irina STRATULAT, Sergiu DOBROJAN, Victor ŞALARU
Universitatea de Stata din Moldova, Laboratorul de Cercetări Ştiinţifice „Algologie", str. M. Kogâlniceanu 65 A
stratulat.irina90@yahoo.com

Abstract. The semicontinuous method for cultivation the alga Nostoc flagelliforme leads to a higher quantity of biomass in a short period of time. The high algal productivity is obtained at elimination and substitution of 25% of the nutritive medium Z-8 (12,44 g/l) and elimination and substitution of 50% of medium Drew (5,78 g/l). The pH of the nutritive media for cultivation the alga Nostoc flagelliforme by semicontinuous method have increasing trends followed by decreasing and does not differ substantially depending on the concentrations of elimination and substitution of nutritive medium.

Key words. Nostoc flagelliforme, productivity, semicontinuous cultivation, biomass, daily growth.

Introducere

La etapa actuală cultivarea algelor este o direcţie prioritară a cercetărilor algologice şi biotehnologice. Scopul principal al cultivări algelor este de a modela şi înţelege unele procese fiziologice şi de a obţine biomasă algală utilizată de om în vaste domenii. Biomasa algală, încă din timpuri străvechi a fost utilizată ca sursă de hrană pentru oameni şi animale, ca fertilizant biologic, agent pentru tratarea apei reziduale etc.

În ultima perioadă, datorită progresului ştiinţific, biomasa algală a început a fi valorificată ca o posibilă sursă de produse alimentare şi furajere, sursă de obţinere a biocombustibilului, produse chimice fine şi vaste produse farmaceutice [2].

Pentru cultivarea eficientă a algelor sunt aplicate mai multe metode, cum ar fi: periodică, continuă, semicontinuă etc., care diferă în funcţie de scop şi rezultant preconizat [4]. Una din cele mai eficace metode de cultivare a algelor este metoda semicontinuă, care permite menţinerea culturii în faza de creştere exponenţială, ceea ce asigură obţinerea unei cantităţi mai înalte de biomasă algală comparativ cu aplicarea metodei periodice [1, 2]. Metoda continuă şi semicontinuă de cultivare a algelor a fost experimentată la cultivarea speciilor *Chlorella, Scenedesmus, Dunaliella, Spirulina, Porphyridium, Haematococcus*, etc., obţinându-se rezultate semnificative. Aplicarea metodei semicontinuă de cultivare a algei *Dunaliella tertiolecta* a permis obţinerea unei cantităţi majore de biomasă (0,74 g/l la a 7-a zi) [3]. Cultivarea algei *Anabaenopsis* sp. după metoda semicontinuă a permis majorarea biomasei algale de 7,12 ori timp de 9 zile [4].

Datorită rezultatelor înalte obţinute la aplicarea metodei semicontinuă de cultivare a multor specii de alge, ne-am propus să experimentăm această metodă pentru cultivarea algei *Nostoc flagelliforme.*

Materiale şi metode

Obiect al studiului a fost alga *Nostoc flagelliforme* (Berk et. Curt) Elenk**.** depozitată, în cultură pură în Colecţia Laboratorului de Cercetări Ştiinţifice „Algologie" a Universităţii de Stat din Moldova.

Cultivarea semicontinuă a algei *Nostoc flagelliforme* a fost efectuată în condiţii de laborator la temperatura de 28-30˚C şi intensitatea luminii-3000 lucşi, timp de 12 zile pe mediile nutritive lichide Drew şi Z 8 [6, 8]. Cultivarea semicontinuă a fost realizată prin excluderea a 25%, 50% şi 75% din volumul mediului nutritiv peste un interval de 3 zile şi prin înlocuirea cu mediu nutritiv proaspăt pregătit. Inoculul algal a fost obţinut din cultura menţinută pe mediu lichid, care se afla în faza exponenţială de creştere.

Pe parcursul experimentelor a fost determinată productivitatea algală [9], creşterea zilnică[10] şi pH-ul mediilor nutritive (aplicând metoda potenţiometrică – utilizând electrodul de pH al aparatul multifuncţional „Consort" C-944). Calcularea matematică a rezultatelor obţinute a fost efectuată utilizând programa computerizată „Microsoft Office Excel 2013" determinând eroarea standard (x) şi media aritmetică (X).

Rezultate şi discuţii

Tehnologiile de cultivare semicontinuă permit menţinerea îndelungată a culturii algale, datorită eliminării şi substituirii unei părţi din mediul cultural, asigurându-se astfel necesarul de substanţe nutritive pentru creşterea intensivă a biomasei algale[5]. Cel mai important rezultat al cultivării semicontinue este majorarea biomasei algale, care se determină prin măsurarea productivităţii. Acest indicator este direct dependent de metoda de cultivare, mediu nutritiv utilizat, factorii de mediu etc.

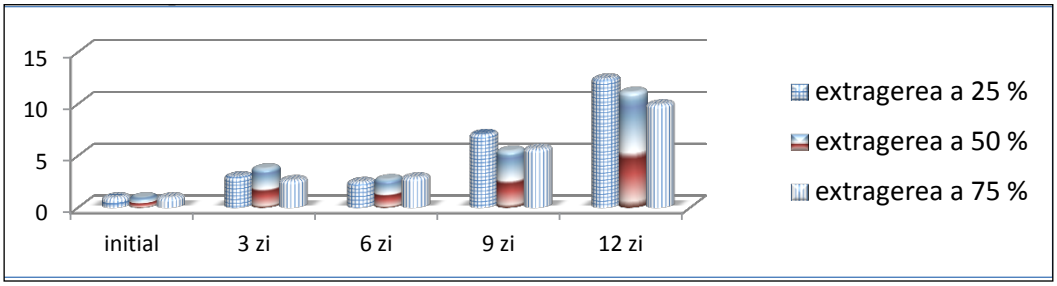


Figura 1. **Productivitatea algei *Nostoc flagelliforme* cultivată după metoda semicontinuă pe mediul nutritiv Z-8**

Metoda cultivării semicontinuă a algei *Nostoc flagelliforme* pe mediul nutritiv Z-8 permite obţinerea unei cantităţi înalte de biomasă într-un interval de timp redus. Biomasa algală obţinută în rezultatul aplicării metodei semicontinue variază şi în funcţie de cantitatea de mediu nutritiv eliminat şi înlocuit cu aceeaşi cantitate de mediu proaspăt pregătit.Astfel, timp de 12 zile în varianta cu eliminarea şi substituirea ulterioară a 25% din mediul nutritiv Z-8, obţinem o productivitate de 12,44 g/l, iar la eliminarea şi substituirea a 50% din mediu nutritiv Z-8-11,15 g/l. Cele mai reduse cantităţi de biomasă (9,95 g/l) s-au obţinut în variantele cu eliminare şi substituire a 75% din mediu nutritiv Z-8 (fig. 1). Reducerea biomasei algale la eliminarea şi substituire a 75% din mediu nutritiv poate fi cauzată, probabil,de supraîncărcarea culturii cu substanţe nutritive.

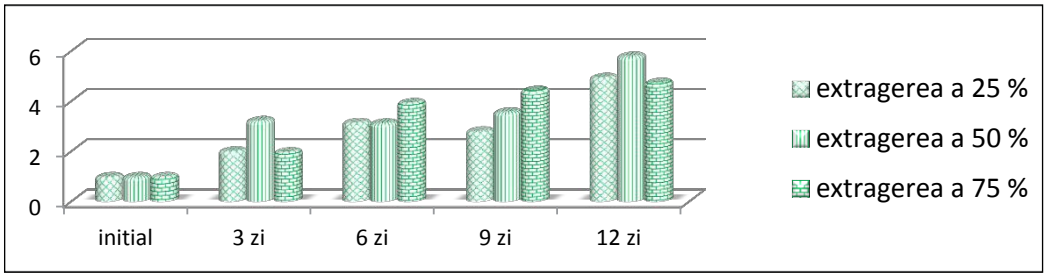


Figura 2. **Productivitatea algei *Nostoc flagelliforme* cultivată după metoda semicontinuă pe mediul nutritiv Drew**

În rezultatul analizei cantitative a biomasei algei *Nostoc flagelliforme* cultivată pe mediul nutritiv Drew, s-a constatat că sporirea productivităţii a fost stimulată de cultivarea semicontinuă în variantele cu eliminarea şi substituirea a 50% din mediu nutritiv, ceea ce permite obţinerea a 5,78 g/l biomasă timp de 12 zile. Rezultate apropiate (4,93–4,73 g/l biomasă algală) s-au înregistrat în variantele cu eliminarea şi substituirea a 25% şi 75% din mediu nutritiv Drew (fig. 2).

Cultivarea algei *Nostoc flagelliforme* după metoda periodică asigură obţinerea a maxim 5,14 g/l de biomasă algală [7], ceea ce este mai puţin decât în cazul aplicării metodei semicontinue.

Un indice important, care caracterizează procesul de creştere a biomasei algale este şi pH-ul mediului nutritiv, deoarece în procesul de creştere, unele algele schimbă pH-ul mediului în direcţia bazică.

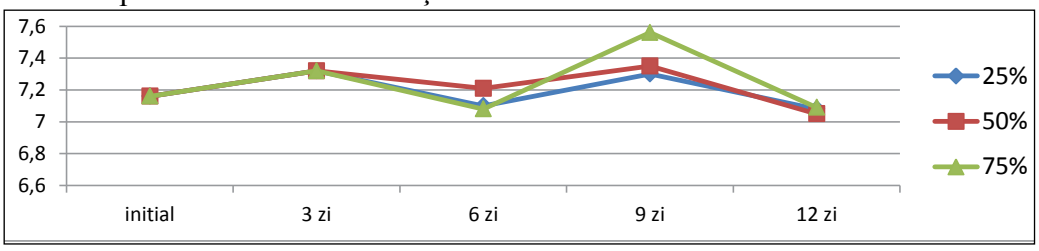


Figura 3. **Modificările pH-ului mediului nutritiv la cultivarea semicontinuă a algei *Nostoc flagelliforme* pe mediul Drew**

pH-ul mediului nutritiv Drew, la cultivarea semicontinuă a algei *Nostoc flagelliforme* s-a situat în limitele de 7,08-7,56 (fig. 3). Valorile acestui indice nu se modifică substanţial în funcţie de variantele de cultivare, însă se observătendinţă de creştere uşoară până la a 9-a zi după care descreşte.

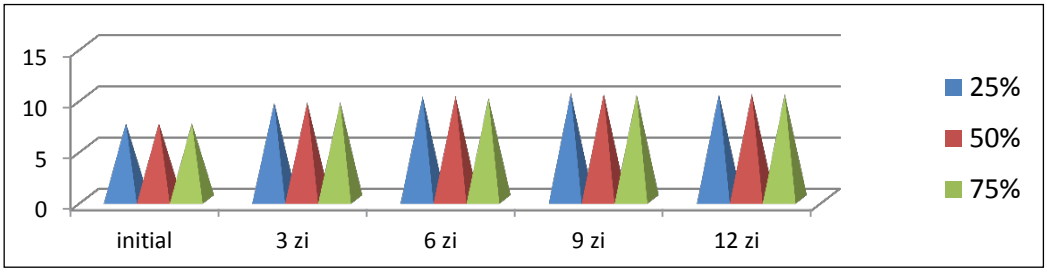


Figura 4. **Modificările pH-ului mediului nutritiv la cultivarea semicontinuă a algei *Nostoc flagelliforme* pe mediul Z-8**

La cultivarea pe mediul nutritiv Z-8 valorilepH-ului, de asemenea nu atestă deosebiri esenţiale între variantele experimentale,acestea fiind situate în limitele de 7,46-10,41 (fig. 4).

Tabelul 1.

Creşterea zilnică a biomasei algei *Nostoc flagelliforme*, g/l/zi

Variantele experimentate		Perioada monitorizată, zile			
		1-3 zi X±x	3-6 zi X±x	6-9 zi X±x	9-12 zi X±x
Mediul nutritiv Z-8	25%	0,68±0,02	-0,19±0,01	1,54±0,04	1,79±0,04
	50 %	0,93±0,04	-0,35±0,02	0,92±0,04	1,89±0,04
	75%	0,55±0,02	0,09±0,03	0,92±0,04	1,43±0,03
Mediul nutritiv Drew	25%	0,34±0,01	0,38±0,01	-0,11±0,01	0,71±0,02
	50 %	0,75±0,02	-0,03±0,01	0,15±0,01	0,74±0,02
	75%	0,33±0,02	0,65±0,02	0,16±0,01	0,11±0,01

Creşterea zilnică a biomasei algale ne oferă posibilitatea de analiză mai detaliată a procesului de acumulare a biomasei. După cum observăm, creşterea zilnică a biomasei algei *Nostoc flagelliforme* variază de la un interval la altul. Primele 3 zile biomasa creşte intens atât pe mediul nutritiv Z-8, cât şi pe Drew. Între a 3-a şi a 6-a zi biomasa practic descreşte (în special în loturile cu eliminarea şi substituirea a 25-50% din mediu nutritiv). Acest lucru probabil se lămureşte prin aco-

modarea algei la mediile nutritive propuse şi metoda de cultivare. În intervalul 6-9 zile şi 9-12 zile biomasa algală creşte în toate variantele experimentale. Cele mai mari valori ale creşterii zilnice a biomasei algei *Nostoc flagelliforme* s-au înregistrat în variantele cu eliminarea şi substituirea a50% din mediile nutritive Z-8 (1,89±0,04 g/l/zi) şi Drew (0,74±0,02 g/l/zi). Cea mai mare intensitate a creşterii zilnice a biomasei s-a stabilit pe mediul nutritiv Z-8. Acest lucru se datorează faptului că mediul nutritiv Z-8 este mai bogat în micro şi macro nutrienţi necesari creşterii celulelor algei *Nostoc flagelliforme*.

Concluzii

- Aplicarea metodei de cultivare semicontinuă a algei *Nostoc flagelliforme* pe diferite medii nutritive rezultă cu variate concentraţii de eliminarea şi substituire a mediului nutritiv. Cea mai înaltă productivitate algală se obţine la eliminarea şi substituire a 25% din mediul nutritiv Z-8 (12,44 g/l) şi la eliminarea şi substituirea a 50% din mediul nutritiv Drew (5,78 g/l).
- Cele mai mari valori ale creşterii zilnice a biomasei algei *Nostoc flagelliforme* s-au înregistrat în intervalul 9-12 zile în variantele cu extragere şi substituire a 50% din mediu nutritiv Z-8 (1,89±0,04 g/l/zi) şi 50% din mediu nutritiv Drew (0,74±0,02 g/l/zi).
- pH-ul mediilor nutritive nu diferă substanţial în funcţie de concentraţiile mediului nutritiv extrase şi substituite.
- Pentru cultivarea industrială a algei *Nostoc flagelliforme* propunem aplicarea metodei semicontinuă timp de 12 zile cu eliminarea şi substituirea peste fiecare 3 zile a 50% din mediul nutritiv Z-8.

Bibliografie

1. Anderson Lg, Tanhua T, Björk G, Hjalmarsson S, Jones Ep, Jutterström S, Rudels B, Swift Jh, Wåhlstöm I. Arctic ocean shelf–basin interaction: an active continental shelf CO_2 pump and its impact on the degree of calcium carbonate solubility. // Deep-Sea Res Ocean, 2010, 57 (7), p:-869-879
2. BarsantiL., Gualtieri P. Algae Anatomy, biochemistry and biotechnology. Taylor & Francis Group, 2006, 209-p.
3. Damien J. Farrelly, Liam Brennan, Colm D. Everard, Kevin P. Mcdonnell, Carbon dioxide utilisation of *Dunaliella tertiolecta* for carbon bio-mitigation in a semicontinuous photobioreactor. Appl Microbiol Biotechnol, DOI 10.1007/s00253-013-5322-y
4. Dobrojan G., Stratulat I., Dobrojan S. Utilizarea metodei de cultivare semicontinuă a algei *Anabaenopsis* sp. pe mediul nutritiv Z-8. // Studia Universitatis, 2013, nr. 1 (61), p.-88-91**.**
5. Dobrojan S., Modificările morfofiziologice şi biochimice ale algei *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl.cultivate pe ape reziduale şi utilizarea ei, Teză de doctor în biologie, Chişinău, 2011, 139-p.

6. Kotai J. Instructions for preparation of modified nutrients solution Z-8 for algae. B-11/69, 1972. p.-5.
7. Stratulat I., Dobrojan S., Şalaru V.. Cultivarea algei *Nostoc flagelliforme* pe diferite medii nutritive. // Buletinul Ştiinţific, Revistă de Etnografie, Ştiinţele Naturii şi Muzeologie, nr. 16(29), 2012, p.-81-86.
8. Гайсина Л. А., А. И. Фазлутдинова, Р. Р. Кабиров. Современные методы выделения и культивирования водорослей. Учебное пособие.Уфа: Изд-во БГПУ, 2008. 152-с.
9. Левич А. П. Искусство и метод в моделировании систем. Москва: Ижевск, 2012. 728-с.
10. Перт С. ДЖ. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. Москва: Изд. Мир, 1978, 330-с.