

CZU: 582.263:601(478)

DOI: 10.36120/2587-3644.v9i1.70-77

INVENTARIEREA CLOROFITELOR LACULUI „LA IZVOR” ȘI UTILIZAREA UNOR SPECII ÎN BIOTEHNOLOGIE

Boris NEDBALIUC, dr., conf. univ., catedra Biologie vegetală, UST

<https://orcid.org/0000-0002-9116-4515>

Sofia GRIGORCEA, dr., conf. univ., catedra Biologie vegetală, UST

<https://orcid.org/0000-0002-4948-6430>

Eugenia CHIRIAC, dr., conf. univ., catedra Biologie vegetală, UST

<https://orcid.org/0000-0002-5935-0414>

Ana DONCILĂ, studentă ciclul II, facultatea Biologie și chimie, UST

<https://orcid.org/0000-0002-9674-0403>

Rodica NEDBALIUC, profesor biologie grad didactic II, IPLTPA „M.Berezovschi”

<https://orcid.org/0000-0002-7916-2234>

Ana ȚIGANAȘ, asistent universitar, catedra Biologie animală, UST

<https://orcid.org/0000-0001-5120-0780>

Abstract. Algele servesc în calitate de indicatori biologici, devenind componente obligatorii în aprecierea stării ecosistemelor acvatice, inclusiv evaluarea saprobității și troficității acestora. În rezultatul proceselor metabolice ele elimină în mediul înconjurător o serie de substanțe, care pot influența creșterea și dezvoltarea plantelor. În condiții de laborator au fost supuse cultivării unele specii de alge colectate din lacul „La Izvor”. Extractul algal obținut din speciile *Scenedesmus spinosus* și *Zygnema* sp. conține o cantitate mai mare de substanțe biologice active, care au provocat stimularea creșterii plantulelor de grâu, în special la etape ontogenetice avansate de dezvoltare.

Cuvinte cheie: perifiton, fitoplancton, cultivare productivitate, stimulare, inhibare.

THE INVENTORY OF CHLOROPHYTA FROM THE LAKE ”LA IZVOR” AND THE USE OF SOME SPECIES IN BIOTECHNOLOGY

Abstract. Algae serve as biological indicators, becoming mandatory components in assessing the state of an aquatic ecosystems, including assessing their saprobity and trophicity. As a result of the metabolic processes, they eliminate in the environment a series of substances, which can influence the growth and development of plants. Under laboratory conditions, some species of algae collected from the Lake „La Izvor” were subjected to cultivation. The algal extract obtained from the species *Scenedesmus spinosus* and *Zygnema* sp. contains a greater quantity of biologically active substances, which have stimulated the growth of wheat plantlets, especially at advanced ontogenetic stages of development.

Keywords: periphyton, phytoplankton, cultivation, productivity, stimulation, inhibition.

Introducere

Algoflora bazinelor acvatice participă la formarea hidrobiocenozelor, influențează proprietățile organoleptice ale apelor și le îmbogățesc cu oxigen, purifică apele poluate cu elemente biogene, metale grele, radionuclizi, contribuind la epurarea în general a tuturor componentelor mediului [1].

În decursul ultimilor decenii, datorită poluării intensive a apei au apărut schimbări esențiale în componența comunităților organismelor acvatice. În locul speciilor de alge

caracteristice acestor bazine au apărut specii rezistente la concentrații sporite de substanțe organice dizolvate în apă. În zona litorală a bazinelor se dezvoltă abundent algele verzi filamentoase (specii din genurile *Cladophora*, *Rhizoclonium*, *Mougeotia*, *Spirogyra*) cu o biomasă de până la 10-15 kg/m², iar în planctonul acestora, în timpul cald al anului, se observă o dezvoltare exagerată a cianofitelor (specii din genurile *Microcystis*, *Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Oscillatoria* etc.), clorofitelor (specii din genurile *Chlamydomonas*, *Chlorella*, *Eudorina* etc.) și euglenofitelor (specii din genul *Euglena*), ceea ce este o dovadă de poluare evidentă a bazinelor acvatice cu substanțe organice [5].

Algele dispun de mecanisme fiziologice ce contribuie la curățarea de poluanți a mediului în care ele se dezvoltă prin diverse schimbări structurale la nivel celular, de depozitare sau prin eficientizarea utilizării resurselor. Servesc în calitate de indicatori biologici, devenind componente obligatorii în aprecierea stării ecosistemelor acvatice, inclusiv evaluarea saprobității și a troficității acestora [7]. În procesul metabolismului algele elimină în mediul înconjurător o serie de substanțe extracelulare, care influențează creșterea și dezvoltarea plantelor superioare. Aceste substanțe au un rol important în îmbunătățirea germinării semințelor și creșterii plantelor de cultură. Acestea pot fi substanțele bogate în azot, inclusiv aminoacizii, vitamina B₁₂ și biotina, precum și hormonii de creștere, inclusiv: auxinele, citokininele, giberelinele, antibioticele și alți compuși bioactivi [4].

Materiale și metode de cercetare

Studiile algoflorei perifitonice și planctonice din lacul „La Izvor” au fost începute de către noi în anul 2017 și continuate până în anul 2019. Probele de alge perifitonice s-au recoltat împreună cu o porțiune de substrat, care se introduceau într-un vas cu anumit volum de apă pentru a fi studiate în stare vie, uneori erau fixate într-un lichid conservant (formol 4% sau 35-40% etanol). Probele calitative de fitoplancton se colectau cu ajutorul fileului fitoplanctonic, iar cele cantitative – prin prelevarea unui volum precis de apă (0,5 sau 1,0 litri de apă cu algele planctonice) din stațiile supuse cercetării și adâncimile stabilite [2; 8; 17].

Aduse în laborator, probele cu alge erau supuse studiului. Examinarea calitativă și cantitativă a perifitonului și fitoplanctonului sa efectuat în microscopul Микромед 1 (вар. 3 LED). La identificarea speciilor s-au folosit determinatoarele în vigoare [3; 9; 11; 12; 13; 14; 15; 16; 18].

Pe parcursul studiului, în laboratorul „Biotehnologii ecologice” a Universității de Stat din Tiraspol, au fost supuse cultivării pentru obținerea extractului apos speciile de alge *Zygnema* sp., *Spirogyra* sp. și *Scenedesmus spinosus* Chod., colectate din lacul La Izvor. În calitate de substrat pentru cultivarea acestor tulpini, în condiții de laborator, și sporirea productivității acestora au fost utilizate medii de cultură de proveniență naturală (extract de sol). Cultivarea s-a efectuat în baloane Erlenmayer (250 ml) cu câte 100 ml de mediu, timp de 13 zile, la temperatura de 27°C - 32°C.

Extractul obținut a fost folosit pentru tratarea în condiții de laborator a plantulelor de grâu a soiului semitimpuriu - Izvor, timp de 14 zile. În calitate de martor au servit plantulele irigate cu apa distilată.

Procesarea datelor obținute s-a efectuat în pachetul de soft STATISTICA 7.

Rezultate și discuții

Comunitățile de alge din lacul La Izvor includ specii din diverse filumuri, dintre care un rol deosebit îl au algele verzi (Chlorophyta), care prezintă atât un interes teoretic, constituind obiecte de studii ideale pentru descifrarea proceselor biologice, cât și aplicativ, datorită potențialului lor biochimic. În rezultatul investigațiilor efectuate în anii 2017-2019 a comunităților de alge bentonice și planctonice din acest lac au fost evidențiate 59 de specii și varietăți de clorofite. Acest număr de specii aparțin la 38 de genuri, 19 familii, 6 ordine și 4 clase (tab. 1).

Tabelul 1. Structura taxonomică a clorofitelor lacului „La Izvor”

Clasa	Numărul				
	Ordine	Familii	Genuri	Specii	%
Chlorococrophyceae	1	12	19	31	52,6
Ulothrichophyceae	1	3	8	10	16,9
Volvocophyceae	2	2	5	8	13,6
Zygnematophyceae	2	2	6	10	16,9
Total	6	19	38	59	100

Mai numeroasă în taxoni este clasa Chlorococrophyceae cu 31 specii și varietăți de alge, sau 52,6% din numărul total de specii de alge verzi. Toate speciile din această clasă aparțin ordinului Chlorococcales. Mai numeroasă în specii s-a dovedit a fi familia *Scenedesmaceae*, din care fac parte genurile: *Scenedesmus* Meyen cu 6 specii, *Crucigenia* Korsch. și *Didymocystis* Meyen cu câte o singură specie. Numeroasă este și familia *Chlorococcaceae* cu 5 genuri: *Characium* A. Br. cu 2 specii, *Ankyra* Fott., *Chlorococcum* Menegh., *Pseudocharacium* Korsch. și *Schroederia* Lemm et Korsch. cu câte o singură specie.

Mai frecvente în algoflora lacului s-au dovedit a fi speciile *Chlorella vulgaris* Beier., *Chlorococcum infusionum* (Schrank.) Menegh., *Coelastrum microporum* Nag., *C. spaericum* Näg., *Dictyosphaerium pulchellum* Wood., *Didymocystis planctonica* Korsch., *Oocystis borgei* Snow, *Pediastrum boryanum* (Turp.) Menegh., *P. simplex* Meyen, *Scenedesmus acuminatus* (Lagerh.) Chod., *S. quadricauda* (Turp.) Breb., *Schroederia robusta* Korsch., *Tetraedron minimum* (A. Br.) Hansg. ș.a.

Din clasa Ulothrichophyceae au fost evidențiate 10 specii, sau 16,9 % din numărul total de specii de alge verzi, dintre care mai frecvente au fost cele din familiile *Chaetophoraceae*, *Cladophoraceae* și *Ulothrichaceae* cu 12 specii *Chlorhormidium subtile* (Kutz.) Starmach, *Cladophora glomerata* (L.) Kutz., *Stigeoclonium tenue* (Ag.) Kutz., *Ulothrix subtilissima* Rabenh., *U. variabilis* Kutz. și *Uronema confervicolum* Lagerh.

Algele din clasa Conjugatophyceae sunt reprezentate de 6 genuri ce fac parte din ordinul Desmidiiales și Zygnematales. Speciile genurilor *Closterium* Nitzsch., *Staurastrum* Meyen. și *Cosmarium* se întâlnesc frecvent în plancton și în bentos, iar *Spirogyra* Link., *Mougeotia* Ag. și *Zygnema* Ag. – atât în perifiton cât și în plancton.

Din clasa Volvocophyceae au fost evidențiate 8 specii, mai numeroase fiind *Chlamydomonas ehrenbergii* Gorosch., *C. globosa* Snow., *C. reinhardtii* Dang., *Carteria multifilis* (Fres.) Dill., *Eudorina elegans* Ehr., *Gonium pectorale* Mull., *Pandorina morum* (Mull.) Bory.

În condiții de laborator pot fi cultivate majoritatea speciilor de alge verzi ce se întâlnesc în diverse biotopuri acvatice și terestre de pe teritoriul Republicii Moldova, mai cu seamă cele din genurile *Ankistrodesmus*, *Chlamydomonas*, *Chlorella*, *Chlorococcum*, *Coelastrum*, *Dictyococcus*, *Dictyosphaerium*, *Kirchneriella*, *Haematococcus*, *Hormidium*, *Hydrodictyon*, *Oedogonium*, *Pediastrum*, *Scenedesmus*, *Spirogyra*, *Staurastrum*, *Tetraedron*, *Zygnema* etc. Pentru investigații au fost folosite culturile de alge *Zygnema* sp., *Spirogyra* sp. și *Scenedesmus spinosus* Chod.

Zygnema sp. Face parte din filumul Chlorophyta, ordinul Zygnematales. Are talul filamentos, neramificat ce constă dintr-un șir de celulele cilindrice cu lungimea de 30-40μ cu lățimea de 2 ori mai mică. Partea centrală a celulei este ocupată de o vacuolă mare. Celula este prevăzută cu doi cromatofori stelați, fiecare înzestrat cu un singur pirenoïd. Filamentele sunt moi și netede. Reproducerea sexuată este de tipul conjugarea, care este de două tipuri – scalariformă și laterală. La conjugarea scalariformă se apropie două filamente, celule vecine de sexe diferite, emit una către alta câte o prelungire, care se întâlnesc și în locul de contact membrana se resoarbe, formându-se un tub de copulare. Conținutul unei celule trece prin acest tub în cealaltă celulă, unde se contopesc citoplasmele și nucleele, formându-se zigotul care se înconjoară cu un înveliș gros, constituind un zigospor, rezistent la condiții de mediu nefavorabile. La germinarea zigosporului, nucleul diploid se divide reducțional, formând 4 nuclee haploide, din care 2 sau 3 degenerază. Sunt alge bento-planctonice, oligosaprobe, oligohalobe-indiferente. În lacul „La Izvor” se întâlnește cu indicele de abundență „rar”.

Spirogyra sp. Este o algă verde cu talul simplu filamentos, neramificat, celulele vegetative au formă cilindrică cu câțiva cromatofori parietali în formă de panglică spiralată cu numeroși pirenoizi. În centrul protoplastului este amplasat nucleul, care este separat de citoplasma parietală printr-un sistem de vacuole. Lungimea celulelor este de la 40 până la 160 μ, de 2-8 ori mai mare decât lățimea. Se reproduce prin fragmentarea talului. Procesul sexuat este de tipul conjugarea (scalariformă sau laterală) asemănătoare cu a speciilor genului *Spirogyra*. Sunt considerate termofile, cu toate că noi le întâlnim deseori în bazinele mici, iarna, sub gheață. Sunt indicatoare de apă slab sau moderat poluată cu indicele de saprobitate de la oligosaprob la β-mesosaprob. În lacul „La Izvor”

sunt frecvente cu indicele de abundență 3-9. Sunt producătoare de substanțe organice primare și oxigen.

În perioada caldă a anului, în bazinele acvatice cu apa stagnantă, produc o biomasă de până la 2,0 kg/m², care conține o serie de substanțe biologice active.

Scenedesmiis spinosus Chod. Este o algă verde cenobială din ordinul Chlorococcales, cu talul din 4, mai rar din 2 sau 8 celule cilindrice, echinivelate, aderente pe 2/3 din lungimea lor, cu capetele larg-rotunjite. Pe suprafața celulelor au niște spini caracteristici. Spinii principali au o lungime aproximativ cât celulele. Pe laturile celulelor marginale, precum și pe polii celulelor mediane mai pot fi observați 1-2 spini secundari, variabili, curbați. Dimensiunile celulelor este 5-15 x 2-7 μ. Celulele dispun de un singur cromatofor periferic, cu pirenoidi laterali și un singur nucleu. Se înmulțește prin autospori, care se reunesc într-un cenobiu nou în interiorul fiecărei celule vegetative a cenobiului-mamă. Reproducerea sexuată este de tipul izogamia [3; 6; 10; 15; 16; 18]. Sunt indicatoare de apă moderat poluată cu indicele de saprobitate β-mezosaprob. În lacul „La Izvor” se întâlnește în plancton și bentos cu indicele de abundență „rar”.

La acțiunea extractului din speciile de alge, genotipurile de grâu de toamnă (soiul Izvor) au manifestat diferite tipuri de reacție: inhibare, stimulare sau lipsă de reacție a caracterelor cercetate (germinație, lungimea rădăciniței și tulpiniței), aceasta variind în funcție de perioada de dezvoltare ontogenetică a culturii.

La intervalul de 4 zile de la semănat s-a constatat o germinare s semințelor de 45-55%. Primele germinări au fost observate în lotul cu suspensia algei *Scenedesmus spinosus* (fig. 1).

Peste 4 zile a fost testată vigoarea de creștere a plantulelor răsărite. S-a stabilit că la etapele incipiente de dezvoltare (4 zile), inhibări ale germinației și lungimii tulpiniței s-au constatat în circa 40-60% cazuri, respectiv, cele mai evidente fiind sub acțiunea extractului din speciile genului *Zygnema*.

O creștere mai sporită s-a constatat în cazul plantulelor irigate cu filtrat de cultură obținut de la cultivarea speciei *Scenedesmus spinosus*, care aveau tulpinița cu lungimea de circa 7-8 cm, aveau o vigoare de creștere de aproximativ 4-5 ori mai mare ca cele irigate cu filtrat obținut de la *Zygnema* sp, și 2-3 ori mai mare decât cele irigate cu extract de la *Spirogyra* sp. și apa distilată.

La etape mai avansate (+2 zile) s-au constatat accelerarea creșterii plantulelor irigate cu filtrat de la *Scenedesmus spinosus* (10-12 cm), *Zygnema* sp. (8-10 cm), apoi apa distilată (7-8 cm) și în sfârșit cele irigate cu filtrat de la *Spirogyra* sp. (6-7cm). Astfel, dacă în primele zile filtratul de cultură obținut de la *Zygnema* sp. avea caracter inhibitor asupra dezvoltării plantulelor de grâu, atunci peste 6 zile s-a înregistrat o creștere activă a acestor plantule (fig. 2).

După 13 zile de la semănatul semințelor, s-a constatat stimulare a creșterii plantulelor de grâu sub acțiunea FC *Scenedesmus spinosus* cu +73,2%; *Spirogyra* sp. cu +20,6%; *Zygnema* sp. cu +74,6%.



Figura 1. Plantulele de grâu la 4 zile de la însămânțare



Figura 2. Plantulele de grâu la 13 zile de la însămânțare

Prin determinarea gradului de similitudine al influenței extractului din biomasa algelor asupra creșterii și dezvoltării în evoluție a plantulelor de grâu, s-au constatat asemănări semnificative între speciile de alge *Scenedesmus spinosus* (2) și *Zygnema* sp. (4) (fig. 3; 4).

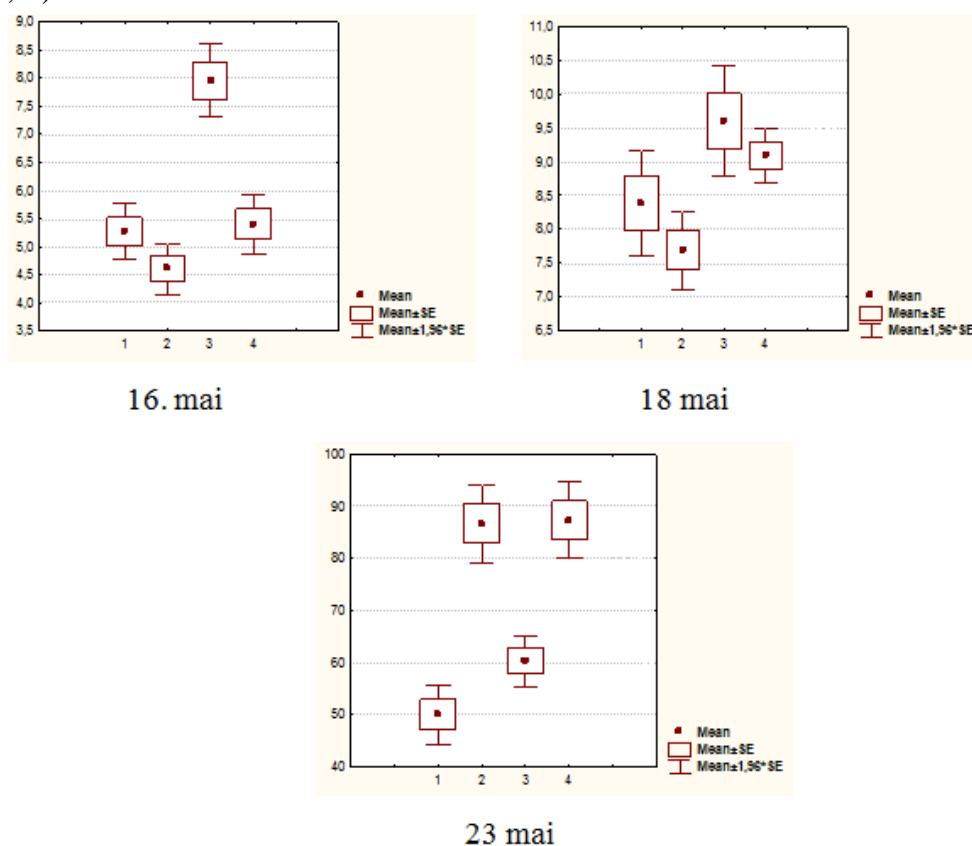


Figura 3. Reacția plantulelor de grâu la extractele din speciile de alge
1. H₂O; 2. *Scenedesmus spinosus*; 3. *Spirogyra* sp.; 4. *Zygnema* sp.

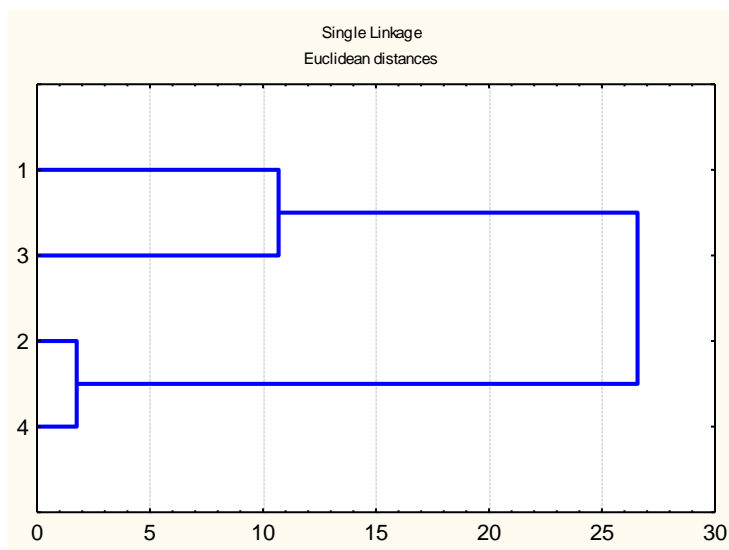


Figura 4. Dendrograma de repartiția a FC algal în baza gradului de similitudine al influenței asupra creșterii plantulelor de grâu

1. Martor (H_2O); 2. *Scenedesmus spinosus*; 3. *Spirogyra* sp.; 4. *Zygnema* sp.

Datele obținute denotă că extractul algal obținut din speciile *Scenedesmus spinosus* și *Zygnema* sp. conține o cantitate mai mare de substanțe biologice active, care au provocat stimularea creșterii plantulelor de grâu, în special la etape ontogenetice avansate de dezvoltare.

Concluzii

Clorofitele au un rol deosebit, constituind obiecte de studiu pentru descifrarea proceselor biologice și potențialului biochimic. Pe parcursul studiului au fost supuse cultivării speciile *Zygnema* sp., *Spirogyra* sp. și *Scenedesmus spinosus*, pentru obținerea extractului apos din biomasa lor, cu tratarea ulterioară a plantulelor soiului de grâu Izvor.

La acțiunea extractului din speciile de alge, genotipurile de grâu de toamnă au manifestat diferite tipuri de reacție: inhibare, stimulare sau lipsă de reacție, în dependență de caracterul analizat și perioada de dezvoltare ontogenetică a culturii.

Analiza dendrogramelor, denotă deosebiri semnificative al influenței FC *Spirogyra* asupra creșterii plantulelor de grâu, comparativ cu *Scenedesmus* și *Zygnema*, ceea ce poate fi explicat prin faptul că acestea conțin diferite substanțe biologice active care provoacă stimularea diferențiată.

Bibliografie

1. Dobrojan S., Șalaru V., Șalaru V., Melnic V., Dobrojan G. Cultivarea algelor. Chișinău: CEP USM, 2016. 173 p.
2. Mohan Gh., Ardelean A. Ecologie și protecția mediului - manual preparator. București: Editura Scaiul, 1993.

3. Naghy-Toth F., Barna A. Alge verzi unicelulare (Chlorococcales). Determinator. Cluj Napoca: Editura Presa Universitară Clujeană, 1998. 200 p.
4. Şalaru V, Bulimaga V., Şalaru V., Trofim A., Zosim L., Pisov M. Rolul unor alge cianofite azotfixatoare în rezolvarea problemei alimentare. In: Studia Universitatis. Seria „Ştiinţe ale naturii”, Biologie. 2013, nr 6(66), p.33-41.
5. Şalaru V., Şalaru V., Melnic V. Fenomenul „înfloririi” apei şi solului – aspecte ecologice şi economice. În: Rev. Bot., Vol.III, Nr.3. Chişinău, 2011. p. 20-28.
6. Tratat de algologie (sub red. acad. Şt. Peterfi) vol. 3. Euglenophyta, Chlorophyta, Xanthophyta. Bucureşti: Editura academiei RSR, 1979. 375 p.
7. Ungureanu L., Tumanova D., Ungureanu G. Statutul trofic şi starea saprobiologică a lacurilor de acumulare Dubăsari şi Cuciurgan conform parametrilor cantitativi ai fitoplanctonului. Buletinul AŞM. Ştiinţele vieţii. Nr. 3 (315) 2011.
8. Абакумов В.А., Бубнова Н.П., Холикова Н.И. и др. Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений (под ред. Абакумов В.А.). Ленинград: Гидрометеиздат, 1983. с. 78-112.
9. Виноградова К.Л., Голлербах М.М., Зауер Л.М., Сдобникова Н.В. Определитель пресноводных водорослей СССР. Выпуск 13. Зеленые, красные и бурые водоросли. Ленинград: Наука, 1980. 248 с.
10. Водоросли. Справочник (под ред. Вассер С. П.). Киев: Наук. думка, 1989. 608 с.
11. Дедусенко-Щеголева Н.Т., Матвиенко А.М., Шкорбатов Л.А. Определитель пресноводных водорослей СССР. Зеленые водоросли. Класс Вольвоксовые. Москва: Изд. Академии Наук, 1959. 230 с.
12. Мошкова, Н.О. Визначник прісноводних водоростей Української РСР. VI. Улотриксіві й кладофорові водорості. Київ: Наук. Думка, 1979. 500 с.
13. Мошкова Н.А., Голлербах М.М. Определитель пресноводных водорослей СССР. Выпуск 10. Зеленые водоросли. Ленинград: Наука, 1986. 360 с.
14. Паламарь-Мордвинцева Г.М. Определитель пресноводных водорослей СССР. Выпуск 11 (2). Зеленые водоросли. Класс Конъюгаты. Порядок Десмидиевые. Ленинград: Наука, 1982. 620 с.
15. Рундіна Л.О. Визначник прісноводних водоростей Української РСР. Вип. 8. Конъюгати. Київ: Ін-т ботаніки ім. М.Г. Холодного, 1988. 204 с.
16. Царенко, П.М. Краткий определитель хлорококковых водорослей УССР. Киев: Наук думка, 1990. 208 с.
17. <https://academiaromana.ro/comisiiAR/Comisia-CNCA/doc-EducationOutreach/07-20121030-MetodeColectareFitoplancton.pdf>
18. <http://www.algae.md> Банк данных пресноводной альгофлоры Молдовы.