

**ANALIZA CANTITATIVĂ ȘI MORFOLOGICĂ A HETEROCIȘTIILOR ALGEI
NOSTOC FLAGELLIFORME (BERK ET. CURT) ELENK.
CULTIVATE PE DIFERITE MEDII NUTRITIVE**

Irina STRATULAT, Victor ȘALARU, Sergiu DOBROJAN

Universitatea de Stat din Moldova

Studierea cantitativă a heterociștilor permite o mai bună înțelegere a procesului de fixare biologică a azotului de către algele cianofite. Volumul heterociștilor și efectivul lor numeric depind de valorile cantitative ale azotului molecular fixat, de specia algei, precum și de componența mediului nutritiv. Pe mediul Drew volumul heterociștilor oscilează între $60,81 \mu^3$ și $81,94 \mu^3$, pe când pe mediul Fogg atinge $58,96-86,59 \mu^3$, iar pe mediul Gusev – $54,68-88,98 \mu^3$. Numărul heterociștilor suportă oscilări în timpul perioadei de creștere, fiind minim la începutul ei și mai mare spre sfârșit. Frecvența maximă a heterociștilor a fost depistată la cultivare în mediul Drew (11,7%), urmat cu 10,97% în mediul Fogg și cu 9,80% în mediul Gusev.

Cuvinte-cheie: *Nostoc flagelliforme, heterociști, volumul heterociștilor, frecvența heterociștilor, azot total, mediu nutritiv.*

**THE QUANTITATIVE AND MORPHOLOGICAL ANALYSIS ON HETEROCYSTS OF THE ALGA
NOSTOC FLAGELLIFORME (BERK ET. CURT) ELENK. CULTIVATED IN DIFFERENT NUTRITIVE
MEDIA**

Study the quantity of heterocysts allows discerning the biological nitrogen fixation process by blue-green algae. The volume and number of heterocysts depend on the quantity of fixed molecular nitrogen, the algae species and the composition of nutritive medium. At the cultivation in Drew medium the volume of heterocysts varies between 60.81 and $81.94 \mu^3$, while in the Fogg – $58.96-86.59 \mu^3$ but in the Gusev – $54.68-88.98 \mu^3$. Number of heterocysts supports the oscillations during on the period of growing, being minimum at the beginning and highest toward the end. The maximum frequency of heterocysts was detected of cultivation in Drew medium (11.7%), followed by 10.97% in the Fogg and 9.80% in the Gusev.

Keywords: *Nostoc flagelliforme, heterocysts, volume of heterocysts, frequency of heterocysts, total nitrogen, nutritive medium.*

Introducere

Este cunoscut faptul că o serie de alge cianofite sunt capabile să fixeze azotul molecular din atmosferă, datorită prezenței în filamente a unor celule specializate, numite *heterociști*. Studiarea efectivului numeric și a morfologiei heterociștilor permite deslușirea procesului de fixare biologică a azotului la alge. Formarea heterociștilor depinde de un șir de factori, cum ar fi iluminarea, temperatura, cantitatea de azot în mediul nutritiv, fosfor, carbon, Fe, Mo și de alte elemente nutritive [2].

Numeroase cercetări denotă că stimularea formării heterociștilor la algele cianofite prezintă o reacție a algei la lipsa azotului în mediul nutritiv. Cercetările efectuate de Fogg demonstrează că formarea heterociștilor se inițiază odată cu transferul speciei de cianofite – *Anabaena cylindrica* – dintr-un mediu cu azot sub formă de nitrați în mediu fără azot [3]. La aceeași concluzie au ajuns și Singh și Trehan (1973), care au constatat că formarea heterociștilor este inhibată în prezența sursei combinate de azot (nitrat și ioni de amoniu), însă este stimulată în prezența azotului molecular (fixarea azotului atmosferic) [2].

Prezența ionilor de amoniu în mediu de cultivare inhibă dezvoltarea heterociștilor intercalari, pe când într-un mediu lipsit de azot se dezvoltă atât heterociști intercalari, cât și terminali [4]. Se consideră că funcția heterociștilor intercalari este de a fixa azotul molecular, însă cei terminali se formează în prezența ionilor de amoniu și, după diferențiere, aceștia pot prelua funcția de spori în urma cărora pot forma două celule fiice. Însă, trebuie de subliniat, totuși, că aceste structuri de spori diferă în ceea ce privește forma, mărimea și poziția lor în trihom [4].

În afară de aceasta, Canabaeus a demonstrat că heterociștii servesc drept recipiente pentru enzime ipotețice responsabile pentru o fermentare, în rezultatul căreia are loc producerea de vacuole gazoase [1 – citat după Fogg].

S-a constatat că alga *Nostoc flagelliforme* produce heterociști în condițiile de insuficiență de azot; cu cât numărul de heterociști este mai mare, cu atât mai intens decurge fixarea azotului din atmosferă, de aceea este important să studiem acest proces în dinamică pentru a-l înțelege și explica.

Material și metode

Drept obiect de studiu a servit alga cianofită *Nostoc flagelliforme*, care este depozitată, în cultură pură, în colecția LCȘ „Algologie”. În vasele Erlenmeyer cu mediul nutritiv Fogg, Gusev și Drew [7], cu volumul de 100 ml, a fost inoculată alga în cantitate de 0,4 g/l biomasă vie. Experimentele au demarat în condiții de laborator la o iluminare permanentă, 2 lămpi fluorescente de 40 W, temperatura – 25-30°C, cu agitare periodică. Modificările morfologice ale heterociștilor au fost analizate peste un interval de 3 zile. Frecvența heterociștilor a fost calculată în raport la 100 celule vegetative. Volumul heterociștilor a fost determinat după formula $V.h. = \pi/6 \times d^3$, unde d reprezintă diametrul heterocistei [5]. Dimensiunile celulelor au fost determinate în baza măsurării, folosind microscopul „Optica provision”. Prelucrarea matematică a rezultatelor a fost efectuată utilizând programa „Microsoft Office-2013”, fiind stabilită media aritmetică (\bar{X}) și eroarea standard (σ).

Rezultate și discuții

Unul dintre factorii principali care duc la formarea heterociștilor este insuficiența sursei de azot [6]. Diferențierea celulelor, în special heterociștii, care este privită ca răspuns la schimbările mediului, este foarte comună atât în condiții naturale, cât și de laborator.

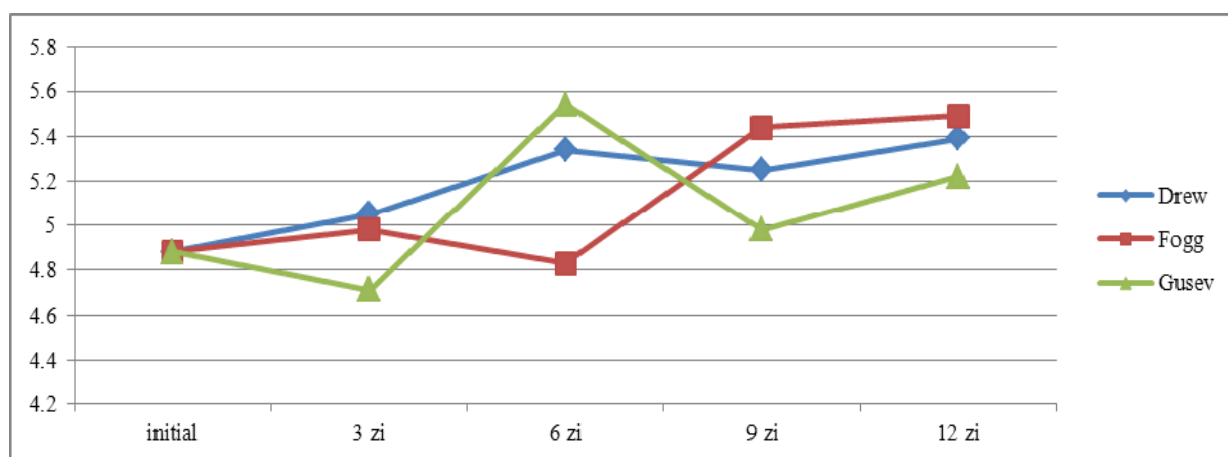


Fig.1. Diametrul heterociștilor algei *Nostoc flagelliforme* la cultivarea pe medii minerale.

Diametrul heterociștilor este un indice important pentru caracteristica morfologică și fiziologică a algei. Inițial, pe toate mediile nutritive diametrul heterociștilor constituia $4,88 \pm 0,08 \mu$, cu volumul de $60,81 \pm 0,08 \mu^3$. La determinarea morfologică nu s-a evidențiat o dinamică proporțională a rezultatelor, datorată creșterii algei în medii nutritive diverse. Volumul acestora este în corelație directă cu oscilările valorilor diametrului heterocistei.

Tabel

Volumul (μ^3) heterociștilor algei *Nostoc flagelliforme* în diferite medii nutritive

Mediul de cultivare	inițial	a 3-a zi	a 6-a zi	a 9-a zi	a 12-a zi
Drew	$60,81 \pm 0,08$	$67,39 \pm 0,07$	$79,68 \pm 0,07$	$75,72 \pm 0,04$	$81,94 \pm 0,04$
Fogg	$60,81 \pm 0,08$	$64,63 \pm 0,05$	$58,96 \pm 0,07$	$84,24 \pm 0,04$	$86,59 \pm 0,04$
Gusev	$60,81 \pm 0,08$	$54,68 \pm 0,05$	$88,98 \pm 0,07$	$64,63 \pm 0,07$	$74,43 \pm 0,04$

Volumul heterociștilor este în strânsă dependență, în primul rând, de componența mediului nutritiv. Însă, e de menționat că schimbările volumului heterociștilor depinde, de asemenea, și de valorile cantitative ale azotului molecular fixat de algă. Pe mediul Drew volumul heterociștilor oscilează între $60,81$ și $81,94 \mu^3$, pe când pe mediul Fogg – $58,96$ - $86,59 \mu^3$, iar pe mediul Gusev – $54,68$ - $88,98 \mu^3$.

Un indice important pentru caracteristica dependenței relaționale dintre heterociști și dinamica procesului azotfixativ al algei este și frecvența heterociștilor. Formarea acestora a fost influențată de către formele de azot din mediul de cultivare.

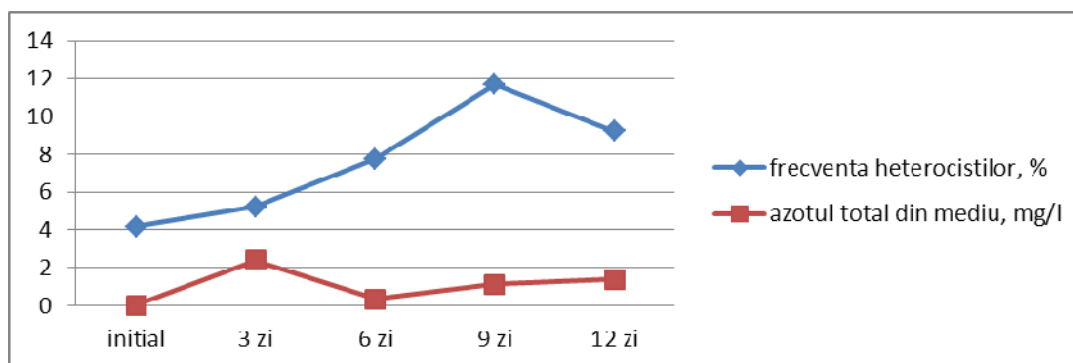


Fig.2. Dinamica frecvenței heterociștilor și a cantității azotului total în mediul Drew la cultivarea algei *Nostoc flagelliforme*.

În Figura 2 se observă o creștere liniară a frecvenței heterociștilor până la a 9-a zi, aproximativ de 2,8 ori (11,7%). Însă, de la a 6-a zi frecvența heterociștilor a crescut considerabil față de valorile inițiale, acest lucru fiind influențat de lipsa azotului din mediul de cultivare, fapt ce a declanșat fixarea mai intensivă a azotului molecular, reducându-l la forma accesibilă de consum pentru desfășurarea activităților vitale ale algei.

Numărul heterociștilor suportă oscilări în timpul perioadei de creștere, fiind minim la începutul ei și mai mare spre sfârșit.

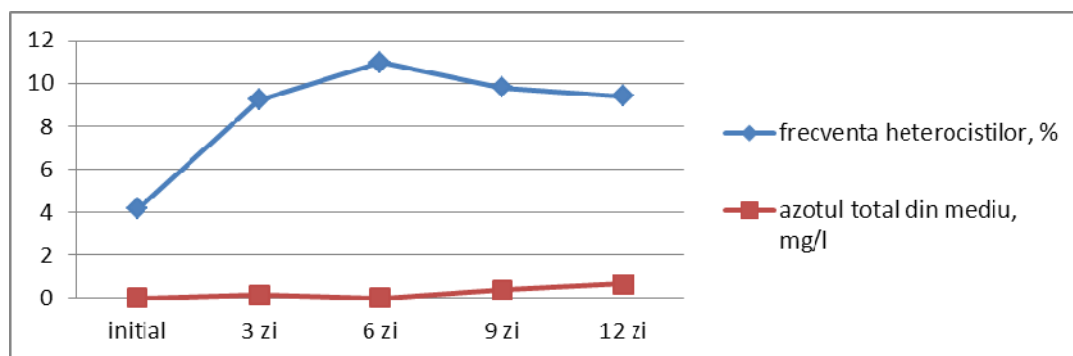


Fig.3. Dinamica frecvenței heterociștilor și a cantității azotului total din mediul Fogg la cultivarea algei *Nostoc flagelliforme*.

Conținutul de azot oscilează între 0,15 și 0,65 mg/l pe întreaga durată de creștere, acestea fiind cantități minime, deși creșterea reală a frecvenței heterociștilor este mai mare în perioada experimentală. Frecvența heterociștilor și conținutul de azot total din mediu tind să varieze invers proporțional, astfel apare o corelație negativă cu conținutul azotului din mediu. De asemenea, s-a observat că frecvența heterociștilor crește foarte intens până la a 6-a zi de cultivare, după care odată cu acumularea azotului în mediul nutritiv heterociștii se reduc numeric.

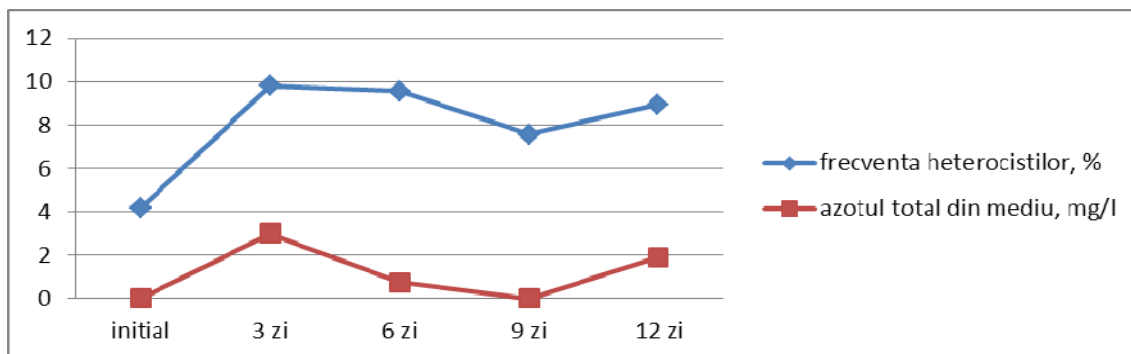


Fig.4. Dinamica frecvenței heterociștilor și a cantității azotului total din mediul Gusev la cultivarea algei *Nostoc flagelliforme*.

La cultivarea algei *Nostoc flagelliforme* pe mediul nutritiv Gusev s-a observat o dinamică proporțională dintre frecvența heterociștilor și cantitatea azotului total din mediu. Este remarcabil faptul că, inițial, lipsa azotului din mediu a condus la formarea heterociștilor și frecvența acestora a crescut, atingând maxima de 9,80%, sau de 2,35 ori mai mare decât la începutul perioadei de cultivare. Pe parcurs, frecvența heterociștilor a scăzut, ajungând la un minim în a 9-a zi, paralel cu diminuarea cantității azotului din mediu până la 0, după care ambele valori au fost în creștere, ceea ce demonstrează că s-a inițiat iarăși procesul de fiscare biologică a azotului.

Concluzii

1. Frecvența heterocistilor la alga *Nostoc flagelliforme* este dependentă de concentrația azotului din mediul nutritiv. Astfel, insuficiența azotului din mediu nutritiv de cultivare a algei *Nostoc flagelliforme* stimulează apariția heterocistilor, iar prezența azotului inhibă procesul de formare a heterociștilor algali.
2. Volumul heterociștilor algei *Nostoc flagelliforme* variază în funcție de mediul nutritiv. La cultivarea algei *Nostoc flagelliforme* pe mediul nutritiv Drew valorile maxime ale volumului heterociștilor sunt $81,94 \pm 0,04 \mu^3$, iar cele minime $67,39 \pm 0,07 \mu^3$. Volumul heterociștilor algei *Nostoc flagelliforme* cultivată pe mediul Fogg atinge maxim – $86,59 \pm 0,04 \mu^3$ și minim – $58,96 \pm 0,07 \mu^3$, iar heterociștii algei *Nostoc flagelliforme* cultivate pe mediul Gusev variază în limitele $54,68 \pm 0,05$ – $88,98 \pm 0,07 \mu^3$. Ca rezultat al analizelor, se atestă că volumul heterociștilor algei *Nostoc flagelliforme* crește, apoi descrește, după care acest proces se repetă. Ceea ce demonstrează caracterul morfologic autoreglabil al heterociștilor.
3. Diametrul heterociștilor algei *Nostoc flagelliforme* variază în funcție de mediul nutritiv de cultivare și intervalul analizat. În linii generale, diametrul heterociștilor algei *Nostoc flagelliforme* se modifică prin creșteri urmate de descreșteri și viceversa, ceea ce indică faptul că și caracterul morfologic al diametrului heterociștilor este autoreglabil.

Bibliografie:

1. FOGG, G.E. Growth and heterocyst production in *Anabaena cylindrica* Lemm. In: *New Phytol.*, 1944, 43, p.164-175.
2. PANKAJ, S. Understanding the Physiology of Heterocyst and Nitrogen Fixation in Cyanobacteria or Blue-Green Algae. In: *Nature and Science*, 2008, 6(1). ISSN: 1545-0740
3. ROANN, E.O., JOHN, F. CAM. *The influence of nitrogen on heterocyst production in blue-green algae*, 1969, vol.14. Issue 3, p.342.
4. TIWARI, D.N. The heterocysts of the blue-green alga *Nostochopsis lobatus*: effects of cultural conditions. In: *New Phytol.*, 81 (1978), p.653-656.
5. VADRUCI, M.R., CABRINI, M., BASSET, A. Biovolume determination of phytoplankton guilds in transitional water ecosystems of Mediterranean Ecoregion. In: *Transitional Waters Bulletin TWB*, 2(2007), p.83-102.
6. XUE-MIN, BI YONG-HONG, ZHOU GUANG-JIE and HU ZHENG-YU. *The morphogenesis of Nostoc flagelliforme under culture conditions*, 2010, vol.34, no.2.
7. СИРЕНКО, Л.А. *Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике*. Киев: Наукова Думка, 1975, с.241.

Notă: Cercetările au fost efectuate în cadrul Proiectului 14.819.18.02.A

Prezentat la 20.03.2014