

PRODUCTIVITY OF THE CYANOBACTERIA *SPIRULINA PLATENSIS* CULTIVATED IN THE PRESENCE OF A COORDINATION COMPOUND WITH Sr(II)

PRODUCTIVITATEA CIANOBACTERIEI *SPIRULINA PLATENSIS* CULTIVATĂ ÎN PREZENȚA UNUI COMPUS COORDINATIV CU Sr(II)

NEDBALIUC Boris^{1,3}, <https://orcid.org/0000-0002-9116-4515>

CIOBANU Eugeniu^{1,3}, <https://orcid.org/0000-0003-3595-4421>

GRIGORCEA Sofia^{1,3}, <https://orcid.org/0000-0002-4948-6430>

URECHE Dumitru⁴, <https://orcid.org/0000-0001-6511-3426>

COROPCEANU Eduard^{2,3}, <https://orcid.org/0000-0003-1073-828X>

BRÎNZĂ Lilia^{1,3}, <https://orcid.org/0000-0003-1936-4376>

¹Catedra Biologie vegetală, Universitatea Pedagogică de Stat „Ion Creangă”

²Catedra Chimie, Universitatea Pedagogică de Stat „Ion Creangă”

³Institutul de Cercetare, Inovare și Transfer Tehnologic al UPSC

⁴Institutul de Chimie al Universității de Stat din Moldova

E-mail address: nedbaliuc.boris@upsc.md

Rezumat. Rezultatele experimentale prezentate în lucrare sunt axate pe analiza productivității tulpinii *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl – CALU – 835 cultivată pe mediul nutritiv Zarrouk și suplimentat cu un compus coordinativ al Sr(II). S-a stabilit că productivitatea spirulinei depinde mult de concentrația compusului coordinativ testat. Cea mai înaltă productivitate a tulpinii *Spirulina platensis* s-a înregistrat în varianta experimentală suplimentată cu compusul coordinativ cu conținut de Sr(II) în concentrație de 1 mg/L, unde biomasă proaspătă acumulată a fost de 10,99 g/L, sau cu circa 4,86% mai mare decât cea acumulată de către martor.

Cuvinte-cheie: *Spirulina platensis*, stronțiu, cultivare, productivitate, stimulare, compus coordinativ.

Abstract: The experimental results presented in this article are focused on the analysis of the productivity of the *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl – CALU – 835 strain grown on Zarrouk nutrient medium and supplemented with a coordination compound of Sr(II). It was

established that the productivity of spirulina depends a lot on the concentration of the tested coordination compound. The highest productivity of the *Spirulina platensis* strain was recorded in the experimental variant supplemented with the coordination compound containing Sr(II) in a concentration of 1 mg/L, where the accumulated fresh biomass was 10.99 g/L, or by about 4.86% higher than that accumulated by the witness.

Keywords: *Spirulina platensis*, strontium, cultivation, productivity, stimulation, coordination compound.

Introducere

Cianobacteriile reprezintă un grup de microorganisme cu importanță majoră atât pentru ecosistemele naturale (acvatice și terestre), cât și din punct de vedere aplicativ. Aceste organisme sunt implicate în fenomene importante ce țin de procesul de autoepurare naturală a apelor bazinelor de suprafață, fertilizanți ai solurilor, stimulatori de creștere a plantelor, precum și producători de substanțe biologic active [7; 9; 11]. Dintre cianobacteriile cultivate și supuse investigațiilor pot fi menționate specii din genurile *Synechocystis* Sauv., *Synechococcus* Näg., *Merismopedia* (Meyen) Elenk., *Microcystis* (Kütz.) Elenk., *Gloeocapsa* (Kütz.) Hollerb., *Anabaena* Bory, *Anabaenopsis* (Wołosz.) Miller, *Cylindrospermum* Kütz., *Nostoc* Elenk., *Spirulina* Turp., *Tolypothrix* Kütz., *Calothrix* (Ag.) V.Poljansk., *Oscillatoria* Wauch., *Phormidium* Kütz. ș.a. Aceste procariote sunt de mare perspectivă pentru a fi utilizate în diferite domenii: farmaceutică, zootehnie, fitotehnie, cosmetologie etc. Astfel, cantitatea de biomasă produsă de tulpinile de cianobacterii reprezintă unul dintre cei mai importanți parametri, fiind direct dependenți de tehnologia de creștere și multiplicare a celulelor acestora [6].

Un factor important în dezvoltarea microorganismelor este mediul nutritiv, compoziția căruia poate influența diverse procese fiziologice. Introducerea compușilor chimici în mediul nutritiv asigură accesul diferitor elemente necesare pentru procesele metabolice. Compușii coordinativi prezintă o clasă de compuși complecși cu o mare diversitate de elemente chimice, deseori fiind apropiați după compoziția și structura lor de molecule naturale cu funcții biologice specifice (clorofila, hemoglobina, vitamina B₁₂ etc.). Este important de menționat, că compușii coordinativi pot influența procesele biologice atât prin intermediul ionului central, care deseori este un biometal, precum și în baza părții organice, care deseori este înzestrată cu

diverși atomi donori de electroni ai diferitor grupe funcționale și pot genera interacțiuni în mediul organic al microorganismului.

Anterior a fost realizată o serie de investigații, care a demonstrat capacitatea compușilor coordinativi de a spori intensitatea unor procese la diverse organisme, inclusiv alge [3; 4], fapt care confirmă necesitatea valorificării acestui domeniu pentru a elabora noi tehnologii de creștere a producției microorganismelor. Cobaltul este un bioelement important, care chiar dacă există în cantități mici în organisme, are un rol deosebit în unele procese, unul dintre exemple fiind cobalamina, care exercită o serie de funcții complexe cu importanță vitală. Un interes deosebit prezintă compușii coordinativi cu două metale diferite în componența lor. Compusul nou sintetizat $[\text{SrL}_3][\text{Co}(\text{NCS})_4]$ constă din anionii și cationii complecși ai două metale diferite (s și p), care la disociere în organism pot acționa în mod separat asupra diferitor procese.

Investigațiile privind stabilirea parametrilor chimici ai mediilor nutritive pentru cultivarea speciilor de alge în condiții de laborator pot fi folosite ca reper pentru inițierea unor tehnologii de cultivare intensivă a acestora [6; 12]. Creându-le condiții nutritive favorabile, cianobacteriile într-un timp relativ scurt (8-10 zile) înregistrează valori sporite privind creșterea zilnică a biomasei. Astfel, tulpinile de *Spirulina platensis* sunt folosite și ca obiecte microbiologice în testarea acțiunii anumitor compuși chimici, care pot exercita efect stimulator sau inhibitor asupra creșterii și acumulării biomasei acestora.

Material și metode

Prezenta cercetare a fost realizată în laboratorul științific „Biotehnologii ecologice” a Universității Pedagogice de Stat „Ion Creangă” din Chișinău în scopul analizei influenței compusului coordinativ al Sr(II) asupra productivității tulpinii *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl – CALU – 835. Tulpina *Spirulina platensis* a fost preluată de la Universitatea de Stat din Moldova (laboratorul de cercetări științifice în Algologie „Vasile Șalaru”) și depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie. Cultivarea s-a realizat în baloane Erlenmeyer, în care se turna mediul lichid de cultură Zarrouk cu următoarea compoziție chimică (g/L): NaHCO_3 – 16,8; NaNO_3 – 2,5; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ – 0,5;

K_2SO_4 – 0,1; $NaCl$ – 1,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2; $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ – 0,04; $FeSO_4$ – 0,01; EDTA – 0,08; soluție de microelemente – 1 mL/L (H_3BO_3 – 2,86; $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ – 1,13; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,222; $NaMoO_4 \cdot 5H_2O$ – 0,39; $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ – 0,049; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ – 0,079), pH – 9,5 [5]. Compusul coordinativ a fost sintetizat conform metodei descrise în literatura de specialitate [2].

Cultivarea s-a efectuat în baloane Erlenmeyer cu volumul de 100 mL, în care se turna câte 75 mL de mediu nutritiv Zarrouk cu suspensia de *Spirulina platensis* (biomasa start 0,05 g/75 mL). Peste 2 zile tulpina de spirulină, din aceste baloane, era tratată cu compusul coordinativ cu conținut de Sr – $[SrL_3][Co(NCS)_4]$ (L – dimetil piridin-2,6-dicarboxilat) (**1**) și cultivată încă timp de 8 zile la o iluminare artificială de circa 4000 lx și la temperatura de circa 27°C. Compusul chimic (**1**) a fost administrat în concentrație de 50 mg/L, 10 mg/L, 5 mg/L, 1 mg/L și 0,5 mg/L. Probele crescute în lipsa acestui compus polimeric, cu respectarea celorlalți parametri de cultivare, au fost considerate probe martor.

Datele obținute au fost prelucrate statistic folosind programul computerizat „STATISTICA 7”, determinând totodată și eroarea standard a mediei. Productivitatea a fost stabilită conform metodei utilizate în investigațiile hidrobiologice [8; 10].

Rezultate și discuții

Din speciile de cianobacterii cu potențial valoros pentru cultivare se enumeră și cele din genul *Spirulina* Turp., care aparțin familiei Oscillatoriaceae (Kirchn.) Elenk., ordinului Oscillatoriales, clasei Hormogoniophyceae, filumului Cyanobacteria. Genul respectiv include peste 50 de specii, frecvent întâlnite în apele dulci, stătătoare și curgătoare [13]. Doar 3 specii au valoare nutrițională și de sănătate pentru oameni – acestea sunt *Spirulina platensis*, *S. maxima* și *S. fusiformis*.

Spirulina platensis reprezintă o cianobacterie filamentoasă cu trihomii de culoare verde-albăstrui. În condiții naturale de dezvoltare are trihomii spiralați, cu spire mai mult sau mai puțin regulate. Fiind cultivată pierde capacitatea de a forma spirală convertindu-se în filamente cu morfologie liniară [1]. Trihomii sunt mobili, lunecând de-a lungul axei sale. Nu dispun de

heterociste. Filamentele sunt solitare, însă pot forma îngrămădiri și mănunchiuri de până la 2-5 mm. Trihomii au lungimea de 350-1000 μ și lățimea de 6-8 μ cu o strangulație slabă în zona pereților transversali dintre celulele vecine. Se înmulțește prin fragmentarea talurilor formând hormogonii. Se deosebește de alte specii ale genului *Spirulina* prin aceea că suportă în mediul de cultură cantități mari de bicarbonat de sodiu – până la 22-25 g/L. În celule sunt prezente pseudovacuoale umplute cu aer.

Tulpina cianobacteriei *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl – CALU – 835 a fost testată la acțiunea compusului coordinativ (1), care a fost suplimentat la mediul standard de cultură Zarrouk. S-a stabilit că efectul compusului polimeric (1) se află într-o strânsă corelație cu concentrația de substanță suplimentar introdusă în mediul nutritiv nominalizat, care posedă efect stimulator/inhibitor diferit asupra culturii cercetate. Astfel, după 8 zile de cultivare a tulpinii *Spirulina platensis* pe mediul nutritiv suplimentat cu compusul coordinativ (1), o cantitate mai sporită de biomasă s-a obținut în variantele experimentale, unde concentrația compusului testat a fost de 1 mg/L, acumulând circa 10,99 g/L biomasă proaspătă, fiind cu 4,86% mai sporită decât biomasa produsă de martor (tab. 1; fig. 1; fig. 2).

Tabelul 1. Biomasa proaspătă acumulată de *Spirulina platensis* timp de 8 zile la tratarea cu compusul coordinativ cu conținut de Sr

| Nr. | Varianta | | Biomasa proaspătă start g/1000 mL | Biomasa proaspătă după 8 zile de cultivare, g/L | | Δ |
|-----|--|-------------|--------------------------------------|--|----------|----------|
| | | | | $\bar{x} \pm m_x$ | σ | |
| 1. | Martor | | 0,5 | 10,48 \pm 0,33 | 0,57 | - |
| 2. | [SrL ₃][Co(NCS) ₄] | 50 mg/L | 0,5 | 9,95 \pm 0,38 | 0,53 | -5,05 |
| 3. | | 10 mg/L | 0,5 | 10,33 \pm 0,11 | 0,20 | -1,43 |
| 4. | | 5 mg/L | 0,5 | 10,56 \pm 0,27 | 0,47 | 0,76 |
| 5. | | 1 mg/L | 0,5 | 10,99 \pm 0,53 | 0,92 | 4,86 |
| 6. | | 0,5 mg/L | 0,5 | 10,60 \pm 0,16 | 0,23 | 1,14 |

Rezultate pozitive au fost obținute și în variantele cu concentrația compusului coordinativ **(1)** de 5 mg/L și 0,5 mg/L, unde tulpina de spirulină a acumulat o biomasă proaspătă de 10,56 g/L și 10,6 g/L respectiv, fiind cu 0,76% și 1,14% mai mare decât biomasa acumulată de varianta martor. Concentrațiile compusului chimic **(1)** de 10 mg/L și 50 mg/L au avut efect inhibitor. Tulpina *Spirulina platensis* la aceste concentrații ale compusului chimic **(1)** a produs o biomasă egală cu circa 10,33 g/L și 9,95 g/L respectiv, fiind cu 1,43% și 5,05% mai mică decât cea acumulată de martor. Concentrațiile mai mici de 0,5 mg/L ale compusului coordinativ testat s-au dovedit a fi neeficiente, deoarece productivitatea tulpinii de *Spirulina platensis* este aproximativ la același nivel cu varianta martor.



Fig. 1. Baloane Erlenmeyer cu cultura de *Spirulina platensis* (1-4 varianta martor, 31-34 varianta cu compusul coordinativ cu conținut de Sr(II) 1 mg/L)

Masa biologică, produsă de cultura de cianobacterie în condițiile cultivării pe medii suplimentate cu compusul coordinativ nominalizat în concentrații de 0,5 mg/L, 1 mg/L și 5 mg/L avea o culoare verde-albăstruie închisă, pe când cea produsă în condițiile variantelor cu concentrații ale complexul **(1)** de 10 mg/L și 50 mg/L avea o culoare verde-albăstruie deschisă.

Concluzii

1. Compusul coordinativ cu conținut de Sr(II) suplimentat la mediul nutritiv lichid Zarrouk stimulează productivitatea culturii *Spirulina platensis*. Efectul depinde de concentrația acestuia.

2. O cantitate mai mare de biomasă proaspătă s-a obținut în variantele experimentale suplimentate cu compusul (1) administrat în concentrație de 1 mg/L, unde biomasă proaspătă a fost de 10,99 g/L, fiind cu 4,86% mai sporită decât cea acumulată de martor.

3. Efect inhibitor față de *S. platensis* au manifestat concentrațiile mai mari de 10 mg/L ale compusului coordinativ testat, unde cantitatea de biomasă este mai mică decât cea produsă de martor.

Studiul a fost realizat în cadrul proiectului de cercetări științifice „*Elaborarea noilor materiale multifuncționale și tehnologii eficiente pentru agricultură, medicină, tehnică și sistemul educațional în baza complexilor metalelor „s” și „d” cu liganzi polidentati*”, inclus în „Program de stat” (2020-2023), Prioritatea V: Competitivitate economică și tehnologii inovative, cifrul 20.80009.5007.28, cu suportul financiar oferit de ANCD.

Bibliografie :

1. BATÎR, L., ELENCIUC, D., ZOSIM, L. Studiul comparativ al indicilor morfologici ai cianobacteriei *Spirulina platensis* cultivată în prezența unor compuși coordinativi ai Cu(II). In: Integrare prin cercetare și inovare. Științe ale naturii. Științe exacte. 10-11 noiembrie 2014. Chișinău: USM, 2014, p. 41-43, ISBN: 978-9975-71-573-7.
2. BULHAC, I., URECHE, D., KRAVTSOV, V., BOUROSH, P.N. Synthesis and structure of heterometallic compounds with dimethyl pyridine-2,6-dicarboxylate. In: Russian Journal of Coordination Chemistry, 2023, vol. 49, no. 2, pp. 77-85. <https://doi.org/10.1134/S1070328422700245>
3. COROPCEANU, E.; CILOCI, A.; ȘTEFÎRȚĂ, A.; BULHAC, I. Study of useful properties of some coordination compounds containing oxime ligands. *Academica Greifswald, Germania*. 2020. 266 p. ISBN 978-3-9402237-24-8

4. COROPCEANU, E.; RUDIC, V.; CEPOI, L.; RUDI, L.; LOZAN, V.; CHIRIAC, T.; MISCU, V.; BULHAC, I.; KRAVTSOV, V.; BOUROS, P. Synthesis and Crystal Structure of $[\text{Co}(\text{DmgH})_2(\text{Thio})_2]_2\text{F}[\text{PF}_6]$. The Effect of Fluorine-Containing Co(III) Dioximates on the Physiological Processes of the Microalga *Porphyridium cruentum*. In: Russian Journal of Coordination Chemistry. 2019, vol. 45, nr. 3, pp. 206-213. <https://doi.org/10.1134/S1070328419030059>
5. DOBROJAN, S., ȘALARU, V., ȘALARU, V. ș.a. Cultivarea algelor. Chișinău: CEP USM, 2016, 173 p., ISBN: 978-9975-71-736-6.
6. DOBROJAN, S.; STRATULAT, I.; DOBROJAN, G. Studiarea procesului de creștere a algei cianofite *Calothrix sp.* cultivate pe mediul nutritiv lichid BG-11. Chișinău: Studia Universitatis Moldaviae, 2017, nr.1(101) Seria „Științe reale și ale naturii”, p. 61-64.
7. DONȚU, N. Algoflora și rolul ei în procesul de epurare biologică a apelor menajere ale municipiului Chișinău. Teza de doctor în științe biologice. Chișinău: 2014, p. 160.
8. RUDIC, V. Aspecte noi ale biotehnologiei moderne. Chișinău: Știința, 1993. 140 p., ISBN: 5-376-01829-6.
9. RUDIC, V.; COJOCARI, A.; CEPOI, L. Ficobiotehnologie – cercetări fundamentale și realizări practice. Chișinău: Elena-V.I., 2007, 365 p.
10. RUDIC, V., GUDUMAC, V., BULIMAGA, V. ș.a. Metode de investigații în ficobiotehnologie. Chișinău: CE USM, 2002, 61 p., ISBN: 9975-70-254-6.
11. TROFIM, A. Importanța obținerii tulpinilor autohtone de cianobacterii și perspectiva de valorificare a acestora. Revistă de proprietate intelectuală – Intellectus. Chișinău: AGEPI nr.1, 2018, p. 107-109.
12. ТРЕНКЕНШУ, Р. П. Простейшие модели роста микроводорослей. 1. Периодическая культура. В: Экология моря, 2005, вып.67, с.89-97.
13. [https://en.wikipedia.org/wiki/Spirulina_\(genus\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Spirulina_(genus))