

**PARAMETRI MORFOLOGICI ȘI BIOCHIMICI
AI MICROALGEI VERZI *DUNALIELLA SALINA* LA CULTIVARE
PE MEDII MINERALE ȘI ORGANO-MINERALE**

Cezara BIVOL

Catedra Biologie Vegetală

The study of morphological and biochemical properties of green microalgae *Dunaliella salina* cultivated on the mineral medium Ben-Amotz and on the medium on the base of the cultural liquid from *Spirulina platensis* produced are presented. The morphological properties of cells are identical. The amino acids content is different, in special, the essential amino acids decrease with 8,81% when *D.salina* on the organo-mineral medium is cultivated.

Introducere

Microalgele și cianobacteriile reprezintă importante surse de substanțe bioactive aplicate în medicină, farmaceutică, cosmetologie, industria alimentară etc. Datorită avantajelor lor (dimensiuni mici, condiții nepretențioase de viață, accesibilitatea extragerii substanțelor bioactive) ele au devenit obiecte-model ale biotehnologiilor moderne. Utilizarea acestora în diverse domenii ale biotehnologiei și industriei corespunde tendințelor actuale de economisire a resurselor și protejare a mediului ambiant [1,7].

De o atenție sporită din partea cercetătorilor se bucură cianobacteria *Spirulina platensis* și microalga verde *Dunaliella salina* – obiecte de studiu solicitate ale industriei microbiologice. *Dunaliella salina* este cunoscută datorită compoziției sale bogate în carotenoizi, în special β -caroten, care este un puternic antioxidant, și în glicerol, component necesar membranelor biologice. Preparatele din dunaliela se utilizează în cosmetologia modernă pentru îngrijirea țesutului epitelial și în industria alimentară ca sursă de coloranți naturali cu efecte benefice asupra stării generale de sănătate a organismului [5].

Un avantaj al dunaliei este și posibilitatea cultivării microalgei pe medii cu un înalt grad de mineralizare. În acest context se efectuează cercetări de cultivare a microalgei *Dunaliella salina* pe lichid cultural al spirulinei. Acest deșeu de producție, rezultat la obținerea biomasei de spirulină, este prețios atât din punctul de vedere al componenței sale minerale, cât și organice.

Astfel, **scopul** lucrării date este studiul unor particularități morfologice și biochimice ale microalgei verzi *Dunaliella salina* la cultivare pe mediul mineral Ben-Amotz și pe mediul organo-mineral preparat în baza lichidului cultural al spirulinei.

Material și metode

Ca obiect de studiu a servit tulpina microalgei *Dunaliella salina* TEOD. CNMN-AV-01 (*Volvocales, Chlorophyta*) cultivată pe mediul mineral Ben-Amotz [3,4] și pe mediul organo-mineral preparat în baza lichidului cultural al cianobacteriei *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. CNMN-CB-02. Deoarece dunaliela este o algă halofilă, iar spirulina – una de apă dulce, lichidul cultural a fost completat cu NaCl în concentrație de 100 g/l [2]. Celelalte exigențe nutritive ale dunaliei rămân a fi satisfăcute de însuși lichidul cultural al spirulinei, al cărei mediu are tangențe comune.

Cultivarea s-a efectuat în retorte conice a câte 100 ml la temperatura de 23-25°C și intensitatea luminii 4000 lucși. Durata cultivării a fost de 10 zile [7].

Studiul morfologic a fost efectuat prin metoda microscopiei fotonice pe preparate native în faza staționară de cultivare. Dimensiunile celulelor de dunalielă au fost determinate cu ajutorul ocularului gradat micrometric.

Determinarea conținutului de aminoacizi legați s-a realizat cu utilizarea analizatorului „AAA-339” al Firmei „Microtechna” (Cehia) și a fost precedată de hidroliza acidă a oligopeptidelor și proteinelor extrase prin metode de fracționare a biomasei de dunalielă descrise și cunoscute în [6].

Rezultate și discuții

Dunaliella salina este un organism unicelular. La microscopul optic celulele sunt verzi, periforme sau ovale, solitare și foarte mobile. Mobilitatea se datorează flagelilor dubli care, însă, nu pot fi vizualizați datorită grosimii lor foarte mici de 20-25 nm [1,10]. Analiza comparativă a aspectului și a dimensiunilor celulelor de dunaliela

cultivată pe mediul mineral Ben-Amotz și pe mediul organo-mineral preparat în baza lichidului cultural al spirulinei evidențiază modificări neesențiale. Aspectul extern al celulelor microalgei *Dunaliella salina* este prezentat în Figura 1. Forma și mobilitatea celulelor nu se modifică.

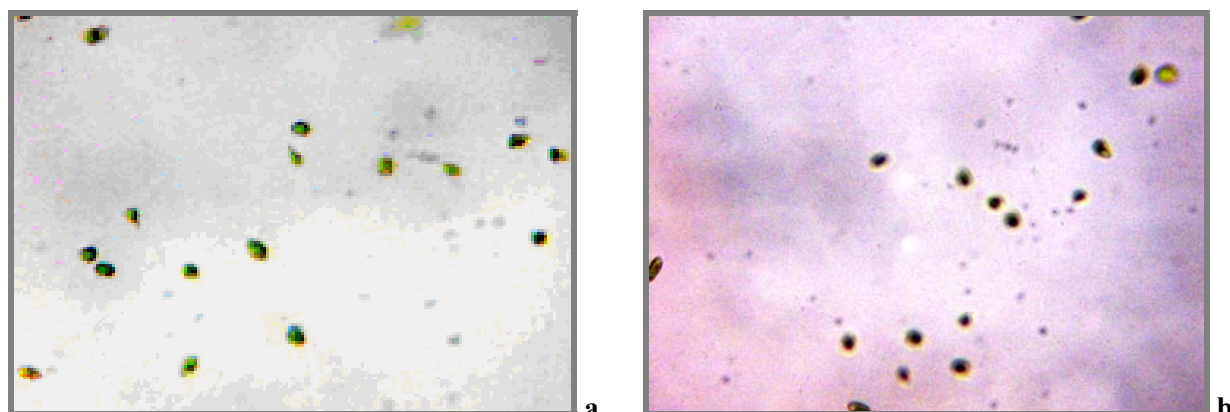


Fig.1. Aspectul celulelor de *Dunaliella salina* cultivată pe mediul mineral Ben-Amotz (a) și pe mediul organo-mineral preparat din lichid cultural al spirulinei (b).

Variații ale dimensiunilor celulelor de dunaliela se întâlnesc frecvent în cadrul genului. Ele sunt condiționate atât de modificări ale mediului de cultură, cât și de modificări ale condițiilor și duratei de cultivare [1,10]. Studiind dimensiunile celulelor de dunaliela, prezentate în Tabel, observăm că atât lungimea, cât și lățimea lor corespunde dimensiunilor întâlnite în cadrul speciei [8]. Lungimea celulelor de dunaliela rămâne constantă, indiferent de mediul de cultură utilizat în procesul cercetărilor. Lățimea celulelor variază, însă, puțin. Limitele de variație a lățimii celulelor sunt mai reduse în cazul cultivării pe mediul organo-mineral și se includ în limitele de variație a lățimii celulelor de dunaliela cultivată pe mediul mineral Ben-Amotz. În cazul cercetărilor noastre studiul dimensiunilor celulelor a fost efectuat pe culturi definitiv adaptate mediilor respective de cultivare, fapt care ne permite să afirmăm cu certitudine că rezultatele expuse sunt veridice și ele rămân constante odată cu respectarea condițiilor de cultivare menționate anterior.

Tabel

Dimensiunile celulelor de *D.salina* cultivată pe mediul mineral și organo-mineral

	Mediul mineral	Mediul organo-mineral	Conform surselor bibliografice
Lungimea, mkm	11,0-12,5	11,0-12,5	11,0-18,7
Lățimea, mkm	5,5-6,0	5,0-6,0	4,4-6,7

Studiul conținutului de aminoacizi, efectuat din componența proteinelor totale extrase preventiv din biomasa de dunaliela cultivată pe mediul mineral Ben-Amotz și pe mediul organo-mineral preparat din lichid cultural al spirulinei suplimentat cu 100 g/l NaCl, este prezentat în Figura 2 pentru aminoacizii esențiali și în Figura 3 – pentru cei neesențiali.

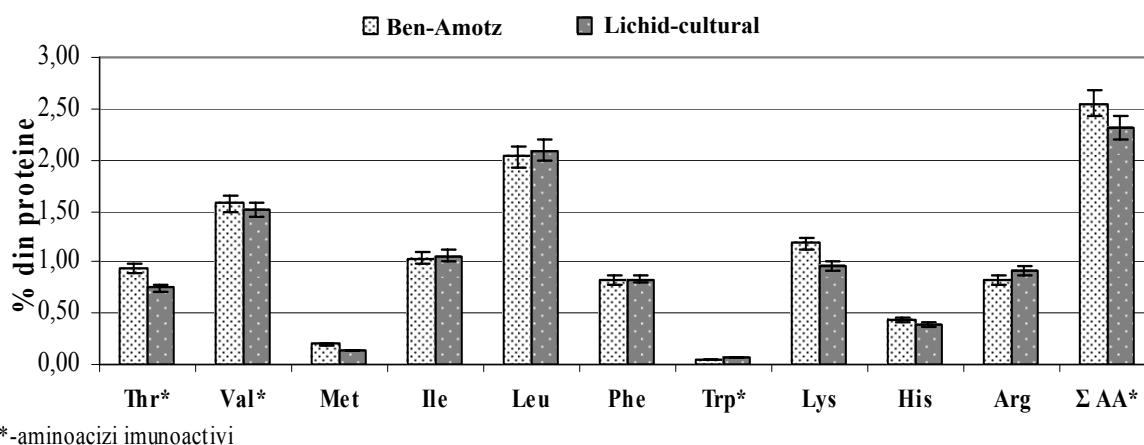


Fig.2. Conținutul aminoacizilor esențiali din componența proteinelor totale ale microalgei verzi *Dunaliella salina*.

Analizând conținutul aminoacizilor esențiali ai dunaliei cultivate pe mediul mineral și mediul organo-mineral s-a observat că noul mediu nutritiv preparat în baza lichidului cultural al spirulinei posedă o acțiune diversă asupra diferitelor tipuri de aminoacizi. Astfel, conținutul de izoleucină, leucină, fenilalanină, triptofan și arginină sporește în biomasa de dunalielă pe fonul micșorării conținutului de treonină, valină, metionină, histidină și lizină. Dintre acestea o valoare aplicativă mai mare o au aminoacizii imunoactivi, al căror conținut total scade cu 8,81% ($P > 0,05$) la cultivarea dunaliei pe mediul organo-mineral [9].

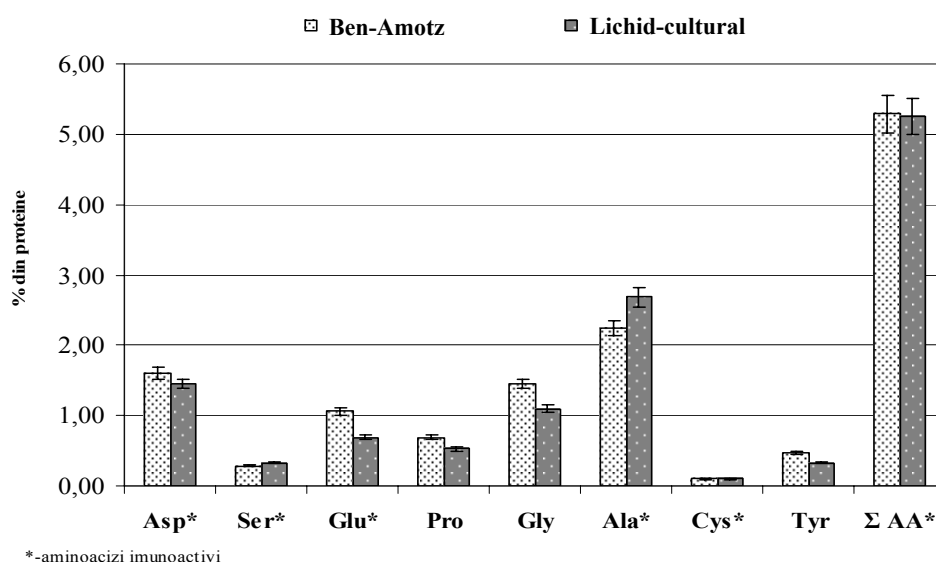


Fig.3. Conținutul aminoacizilor neesențiali din componenta proteinelor totale ale microalgei verzi *Dunaliella salina*.

Și în cazul analizei conținutului aminoacizilor neesențiali în biomasa de dunalielă s-a observat că mediul organo-mineral poate exercita acțiune negativă sau pozitivă în comparație cu mediul mineral Ben-Amotz. Cultivarea microalgei *Dunaliella salina* pe mediul preparat în baza lichidului cultural al spirulinei provoacă micșorarea conținutului de acid aspartic, acid glutamic, prolină, glicină și tirozină. El stimulează, însă, acumularea aminoacizilor serina și alanina. Înlocuirea mediului de cultivare tradițional nu influențează conținutul aminoacidului cisteina, care a înregistrat valori asemănătoare indiferent de mediul nutritiv utilizat. Deși numeric conținutul aminoacizilor neesențiali se micșorează în procesul utilizării mediului organo-mineral în comparație cu mediul Ben-Amotz, suma aminoacizilor imunoactivi ai acestei grupe scade nesemnificativ. Conținutul sumar al aminoacizilor neesențiali constituie 5,27% ($P > 0,05$) din conținutul proteinelor totale ale dunaliei [9].

Astfel, deși morfologic celulele de dunalielă cultivate pe mediul organo-mineral sunt echivalente cu cele cultivate pe mediul mineral Ben-Amotz și dimensiunile lor rămân neschimbate, conținutul de aminoacizi prezintă un tablou foarte variat, aminoacizii esențiali imunoactivi micșorându-se cu 8,81%. Cercetările prezente confirmă rezultatele studiilor biochimice anterioare efectuate asupra microalgei verzi *Dunaliella salina* cultivate pe mediul organo-mineral. Micșorarea conținutului de aminoacizi este condiționată de micșorarea conținutului de proteine din biomasa dunaliei ca rezultat al insuficienței ionilor de NO_2^- și SO_4^{2-} ai lichidului cultural al spirulinei. Cercetările ulterioare prevăd suplimentarea lichidului cultural cu ioni deficitari în scopul transformării lui într-un mediu de cultivare definitiv.

Concluzii

1. Aspectul morfologic al celulelor de *Dunaliella salina* rămâne neschimbat la cultivarea pe mediul organo-mineral preparat în baza lichidului cultural al spirulinei.
2. Celulele de dunalielă crescute pe mediul organo-mineral au 11,0-12,5 mkm lungime și 5,0-6,0 mkm lățime. Aceste dimensiuni rămân practic neschimbate în comparație cu dimensiunile celulelor dunaliei cultivate pe mediul mineral Ben-Amotz și sunt cuprinse în limitele dimensiunilor speciei întâlnite în natură.

3. Conținutul de aminoacizi esențiali imunoactivi este mai mic cu 8,81% la cultivarea dunaliei pe mediul organo-mineral, în comparație cu conținutul acestor aminoacizi în biomasa dunaliei cultivate pe mediul mineral Ben-Amotz. Suma aminoacizilor imunoactivi neesențiali rămâne practic neschimbată (5,27% din conținutul proteinelor totale ale dunaliei) și înregistrează valori asemănătoare atât la cultivarea microalgei *Dunaliella salina* pe mediul mineral, cât și pe cel organo-mineral.

Referințe:

1. Aharon O. A hundred years of *Dunaliella* research: 1905-2005 // Saline Systems. - 2005 1:2. - 10.1186/1746-1448-1-2.
2. Bivol C. Aspecte biotehnologice de reutilizare a mediului de cultivare Zarrouk // International Conference of Young Researchers. Scientific Abstracts, IV Edition. - 2006. -P.69.
3. Ben-Amotz A., Avron M. The biotechnology of cultivating the halotolerant algae *Dunaliella salina* // Trends Biotechnology. - 1990. - Vol.8. - P.121-126.
4. Ficobiotehnologie – cercetări fundamentale și realizări practice. - Chișinău: Elena-V.I., 2007, p.284-296.
5. Murthy Chidambara K.N., Vanitha A., Rajesha I., Swamy Mahadeva M., Sowmya P.R., Ravishankar A.G. In vivo antioxidant activity of carotenoids from *Dunaliella salina* – a green microalga // Life Sciences. - 2005. - Vol.76. Issue 12. - P.1381-1390.
6. Reva V., Ciobanu V., Mueller-Uri F. Strategia izolării și purificării proteinelor. - Chișinău: USM, 2001. - 184 p.
7. Rudic V. Aspecte noi ale biotehnologiei moderne. - Chișinău: Știința, 1993, p.12-76.
8. Rudic V., Gudumac V., Bulimaga V., Dencicov L., Ghelget V., Chiriac T. Metode de investigație în ficobiotehnologie. - Chișinău: CE USM, 2002, p.19-36.
9. Максимов В. Многофакторный эксперимент в биологии. - Москва: МГУ, 1980. - 280 с.
10. Масюк Н.П. Морфология, систематика, экология, география, распространение рода *Dunaliella* TEOD. - Киев: Наукова думка, 1973. - 227 с.

Prezentat la 07.02.2008