

ROLUL UNOR ALGE CIANOFITE AZOTFIXATOARE ÎN REZOLVAREA PROBLEMEI ALIMENTARE

Vasile ȘALARU, Valentina BULIMAGA, Victor ȘALARU,
Alina TROFIM, Liliana ZOSIM, Maria PISOV

Universitatea de Stat din Moldova

Este prezentată o sinteză a rezultatelor cercetărilor din ultimele decenii privind rolul algelor cianofite, în primul rând al celor azotfixatoare, în calitate de biofertilizatori și amelioratori ai solului și influența lor asupra plantelor de cultură. Sunt evaluate unele metode de obținere a inoculului de alge cianofite azotfixatoare și discutate unele tehnologii de imobilizare a lor. Biofertilizatorii sunt componente importante ale managementului integrat al nutrienților. Ei sunt rentabili din punct de vedere economic și ecologic și, totodată, pot servi ca sursă de substanțe biologice active și ca sursă de produse alimentare. Algele cianofite reprezintă una dintre sursele regenerabile pentru a suplimenta sau substitui îngrășămintele chimice și agenții de biocontrol în sisteme agricole durabile. Aceste îngrășăminte biologice potențiale pot juca un rol-cheie în productivitatea plantelor de cultură, precum și în protejarea mediului înconjurător, fiind ecologice și cu costuri mai convenabile pentru fermieri.

Cuvinte-cheie: alge cianofite azotfixatoare, biofertilizatori, tehnologii de cultivare ecologice.

THE ROLE OF NITROGEN FIXING CYANOPHYTE ALGAE IN THE SOLVING OF NUTRITION PROBLEM

The review of research results in recent decades on the role of cyanophyte algae, primarily nitrogen fixing algae, as biofertilizers and soil improvers and their influence on crop plants are presented. Some methods for obtaining algal inoculum of nitrogen fixing cyanophyte algae are evaluated and some technologies of their immobilization are discussed. Biofertilizers are the important components of integrated management of nutrients, being economically profitable and environmentally friendly, serving as a source of biologically active substances and sources of food. Cyanophyte algae are one of the renewable sources to supplement or substitute chemical fertilizers and biocontrol agents in sustainable agricultural systems. The potential biological fertilizer can play a key role in the productivity of crop plants, as well as protecting of the environment, being ecological and cost-efficiently for farmers.

Keywords: nitrogen fixing cyanophyte algae, biofertilizers, technologies of cultivation, environmentally friendly.

Introducere

Una dintre cele mai alarmante probleme cu care se confruntă azi societatea este epuizarea catastrofală a resurselor naturale, în primul rând epuizarea produselor alimentare. Cu toate că, în linii generale, cantitatea produselor alimentare sporește din an în an, totuși pe glob se simte un deficit în alimentația populației. Încă în anul 1977 acad. E.K. Федоров scria că circa o treime din populația de pe glob suferă de foame cronică, iar anual zeci de milioane de oameni mor din cauza insuficienței de hrană [67]. Circa 70 la sută din cei care mor de foame sunt copii.

În scopul diminuării decalajului dintre creșterea numărului populației și posibilitățile de producere a produselor alimentare oamenii de știință selectează noi soiuri productive de plante și animale, elaborează tehnologii avansate în fito- și zootehnie, propun metode noi de lucrare a solului, valorifică stepele și pădurile, transformându-le în terenuri arabile etc. Cu toate acestea, deficitul de produse alimentare, obținute din surse tradiționale, crește din an în an.

În acest context apare necesitatea căutării unor noi surse netradiționale de obținere a produselor alimentare. O sursă incontestabilă de produse alimentare prezintă algele, care conțin în biomasa sintetizată, în dependență de specie, până la 65-75% proteină comestibilă. Pe lângă aceasta, biomasa algală conține până la 25-40% glucide, 10-40% lipide și o gamă largă de cele mai diverse principii biologice active necesare organismului uman. Algele pot contribui direct la sporirea produselor alimentare prin utilizarea nemijlocită a biomasei algale și, indirect, prin aplicarea algelor în calitate de stimulatori biologici la cultivarea plantelor agricole și la creșterea animalelor domestice, fiind utilizate totodată și în calitate de fertilizatori biologici ai solului, ca sursă de remaniere a solurilor degradate etc. Toate acestea se referă în primul rând la algele cianofite (*Cyanophyta*), care, pe lângă particularitățile menționate mai sus, caracteristice pentru alge în general, posedă și un șir de alte însușiri valoroase, ca: organisme azotfixatoare, indicatori ai calității mediului

ambiant, producători de cele mai diverse substanțe biologice active, printre care și multe toxine. Până în prezent sunt descrise și pasportizate cca 2000 specii de alge cianofite. În condițiile Moldovei au fost depistate cca 350 specii de cianofite acvatice și edafice în proporții de aproximativ 1:1 [48,63,68]. Cianofitele sunt cele mai primitive organisme vegetale pe Pământ, a căror vârstă depășește 3,4 mild. ani, de aceea se întâlnesc și se acomodează ușor la cele mai extreme condiții de viață [66]. Tocmai din aceste considerente studierea acestor organisme prezintă un deosebit interes atât teoretic, cât și aplicativ. În continuare vom expune în cele mai generale linii rezultatele cercetărilor asupra rolului unor alge cianofite, în temei al celor azotofixatoare, în sporirea fertilității solului și obținerii produselor alimentare, deficitul cărora devine din an în an tot mai evident.

Algele cianofite prezintă o grupă de procariote fotosintetice, care manifestă proprietăți de ameliorare a fertilității solului, servesc ca producători de substanțe biologice active, precum și ca biosorbenti ai metalelor grele (bioremediere) [15]. Aceste organisme au nevoie de lumina soarelui, ca o sursă de energie pentru fixarea carbonului și azotului. De aceea, ele posedă un potențial valoros care poate fi valorificat, fiind utilizate în calitate de biofertilizatori, ceea ce va reduce cu mult cheltuielile de producere a culturilor agricole [37]. Potențialul ameliorator al biofertilizatorilor este asigurat nu doar de algele cianofite heterocistice, care se pot dezvolta de sine stătător, dar și în simbioză cu specii de plante sau bacterii [13]. Algele cianofite s-au manifestat ca biofertilizatori potriviți pentru sistemele de cultivare a orezului, fiind principalele componente ale ecosistemelor, care mențin umiditatea pentru culturile de orez și servesc în calitate de cele mai ieftine surse de biofertilizatori naturali [23,47]. Totodată, cianofitele azotfixatoare pot fi utilizate nu doar la cultivarea orezului, ci și a multor altor culturi.

Fixarea azotului este un fenomen global important, prin care azotul molecular, unul dintre componentele cele mai abundente ale atmosferei Pământului, este într-o formă mult mai redusă, adecvată pentru integrarea în sistemele vii. În mare parte, fixarea azotului se realizează prin mijloace biologice, fiind asigurată de activitatea microorganismelor [7,38,44]. Acest proces este consumator de energie și în reacția biologică de fixare a azotului este implicat un complex de enzime, numite *nitrogenaze*, care sunt extrem de sensibile la prezența oxigenului [5,40,43]. Astfel, majoritatea microorganismelor participă la acest proces de fixare a azotului numai în condiții adecvate anaerobe sau microaerobe.

Cu toate acestea, unele microorganisme diazotrofice fixatoare de azot au avantajul de a asimila azotul în medii aerobe. Remarcabile printre acestea sunt procariotele fotosintetizante sau algele cianofite, considerate a fi progenitori de cloroplaste. Algele cianofite efectuează atât fotosinteza oxigenului, cât și fixarea azotului sensibilă la oxigen, servind astfel ca o platformă pentru captarea energiei solare și utilizarea ei în procesele metabolice din celule [53]. Printre tulpinile fixatoare de azot, algele cianofite filamentoase au fost intens studiate pentru contribuția lor la ciclul azotului în ecosistemele acvatice și terestre [17,29,32,64].

Unele dintre aceste tulpini filamentoase dezvoltă celule speciale, numite *heterociști*, care permit segregarea spațială a fotosintezei de fixarea azotului. Acești heterociști au, de asemenea, rate mai mari de consum de oxigen, ceea ce duce practic la un mediu anoxic propice pentru enzima nitrogenaza [4]. Spre deosebire de acestea, algele cianofite non-heterocistice duc lipsă de compartimente speciale, libere de oxigen, și de multe ori este nevoie de incubare în condițiile microaerobe sau anaerobe pentru fixarea azotului [39]. Cu toate acestea, unele tulpini de alge cianofite non-heterocistice pot asimila azot în condiții aerobe. Acestea includ unele specii de filamentoase, astfel ca *Cyanothece* [21,24,35].

Al doilea nutrient important după azot pentru plante și microorganisme este fosforul (P). Cele mai multe sisteme acvatice au resurse limitate, în cazul în care P și N sunt adesea nutrienții primari limitatori. Microorganismele acvatice pentru supraviețuire mențin net creșterea populației cu un nivel de resurse mai mici decât cele impuse de alte specii [52]. Algele sunt în special adaptate pentru a curăța de poluanți mediul în care se dezvoltă, prin schimbări structurale, de depozitare sau prin eficientizarea utilizării resurselor [54]. Structura celulei algale implică adaptări biochimice și fiziologice, fiind apte de a elimina substanțe pentru sporirea disponibilității nutrienților.

În procesul metabolismului algele cianofite elimină în mediul înconjurător o serie de substanțe extracelulare, care influențează creșterea și dezvoltarea plantelor de cultură [30,31,62]. Aceste alge aduc beneficii plantelor prin promovarea creșterii producerii de vitamine, aminoacizi, polipeptide, substanțe antibacteriene și antifungice, care exercită biocontrolul asupra fitopatogenilor. Un rol aparte revine excreției de către algele cianofite a polimerilor, în special a exopolizaharidelor, care ameliorează structura solului, dar și a exoenzime-

lor, precum și producerea și furnizarea de hormoni de creștere a plantelor [25]. Așadar, efectul benefic al algelor asupra dezvoltării plantelor de cultură nu poate fi limitat la capacitatea lor de a remedia doar azotul atmosferic, dar, de asemenea, și de a elibera substanțe bioactive.

Cercetările recente vin să confirme cu noi date importanța algelor ca sursă de materie organică în sol [15,16,50]. Materia organică produsă de alge, precum și produsele de descompunere a lor, acționează ca agent de legătură pentru textura solului; astfel, crește conținutul de humus în sol, făcându-l mai fertil pentru creșterea plantelor. Acumularea humusului este de asemenea importantă pentru retenția hidratării [6].

Efectul unei vaste varietăți de substanțe extracelulare produse de către alge, inclusiv de algele cianofite, joacă un rol important în habitatele din apă și, totodată, are un rol important în îmbunătățirea germinării semințelor și creșterii plantelor superioare [12,47]. Acestea pot fi substanțele bogate în azot, inclusiv aminoacizii [59], vitamina B12 și biotina [31], precum și hormonii de creștere, inclusiv: auxinele [61], citokininele [56], gibberelinele sau acidul gibberelic [51,44], antibioticele, algicidele, toxinele, acizii organici și alți compuși bioactivi pentru utilizare în farmaceutică [30].

Algele cianofite pot fi cei mai importanți agenți de fixare a azotului în multe soluri agricole [20,41,42,55], precum și în ameliorarea calității lor [57]. Fertilizarea cu alge cianofite a fost utilizată pentru prima dată la culturile de orez [62]. Ele sunt utilizate pe scară largă în câmpurile de orez din diverse țări, pentru consolidarea fertilității solului prin intermediul procesului de fixare a azotului biologic (așa-numita algalizare) în loc de îngrășăminte bogate în azot [20,42]. Biofertilizatorii sunt susceptibili de a-și asuma un rol semnificativ la substituirea sau completarea îngrășămintelor chimice pentru ameliorarea aportului de nutrienți în culturile de cerealiere, pentru a exclude costurile ridicate ale îngrășămintelor, precum și în protecția mediului ambiant de poluare și în majorarea productivității culturilor agricole [1,49]. Importanța lor ca fixatori de azot în câmpurile de culturi agricole a fost studiată de către mai mulți cercetători [2,19,20,42]. Utilizarea algelor cianofite ca biofertilizatori pentru câmpurile de orez este foarte promițătoare, dar limitată, din cauza fluctuației în calitatea și cantitatea de inocul și atributele fiziologice în diverse regiuni agro-ecologice.

În mai multe regiuni ale Indiei, câmpurile de orez sunt fertilizate de *Azolla* – ferigă de apă care se înmulțește rapid și conține ca simbiot alga cianofită *Anabaena*, care fixează azotul atmosferic, contribuind astfel la creșterea evidentă a roadei. În genere, algele joacă un rol economic important în sporirea fertilității solului și în îmbunătățirea condițiilor de creștere a plantelor de cultură. Mecanismele utilizate pentru a stimula creșterea plantelor include: biofertilizarea (creșterea ofertei de substanțe nutritive minerale la plante), controlul biologic (eliminarea vătămătorilor plantelor, inclusiv patogeni microbieni, insecte și buruieni), producerea și furnizarea hormonilor de creștere a plantelor [25,44,51,56,60]. Tehnicile de biofertilizare cu utilizarea algelor cianofite sunt recomandate pentru creșterea ratei de germinare a semințelor și ameliorarea parametrilor de creștere a plantelor [14,44,47,49].

Încă din primele cercetări asupra algelor cianofite în unele regiuni ale Indiei, Gupta și colaboratorii (1964) au observat că ele accelerează germinarea semințelor și creșterea răsadului. În plus, s-a observat că atât randamentul, cât și calitatea boabelor au fost îmbunătățite, privind conținutul de proteine. Inocularea algelor cianofite fixatoare de azot reprezintă o sursă alternativă și durabilă de azot pentru creșterea productivității plantelor de cultură. Inoculul mixt de *Nostoc*, *Anabaena*, *Westiellopsis*, *Aulosira* și *Scytonema* a fost folosit în studii de teren în 2005 [34]. Pentru comparație a fost utilizat separat și inoculul de *Anabaena*. Inoculul mixt suplimentat cu N: P: K (30:20:20 kg/ha) s-a dovedit a fi cel mai eficient tratament pentru productivitatea plantelor de cultură.

Algele cianofite diazotrofile heterocistice posedă capacitatea de a forma asociații cu plantele superioare și de a produce substanțe de stimulare a creșterii. Cele mai multe dintre lucrările referitoare la inoculanți de alge cianofite au fost axate pe culturile de orez, iar alte culturi au fost mai puțin studiate.

Experimentele efectuate de noi în ultimii ani demonstrează că algalizarea solului cu alge azotfixatoare în condiții de seră stimulează evident productivitatea plantelor leguminoase (date nepublicate).

A fost raportat un studiu de evaluare a potențialului a trei tulpini de alge cianofite din rizosfera de grâu și a influenței lor asupra creșterii acestei plante în experimentele de cultivare a culturii în ghivece. Tratamentele aplicate cu cele trei tulpini în combinație cu 1/3 de N + P + K a dat rezultate echivalente statistic în comparație cu aplicarea dozei totale de îngrășămintă chimică, în ceea ce privește randamentele de cereale [19].

A fost cercetată și influența inoculului de *Nostoc* asupra creșterii culturii de porumb în ghivece. Suspensia tulpinii de *Nostoc* la o concentrație de 1 g (greutate uscată) pe litru a fost uniform turnată în cantitate de 6 g/m²,

respectiv, peste 2 tipuri de sol în ghivece, curând după germinarea porumbului și s-a efectuat cultivarea în decurs de 6 săptămâni. În ambele cazuri s-a observat creșterea conținutului de N în sol, comparativ cu ghivecele cu soluri netratate cu *Nostoc*. A fost observat și un spor al randamentului biomasei vegetale uscate cu 40 și 49%, respectiv, pentru fiecare tip de sol [27].

Cercetările efectului inoculării a două alge cianofite *Anabaena oryzae* și *Nostoc ellipsoidum* asupra culturii de tomate a scos în evidență că atât suspensia, cât și filtratele obținute din aceste două alge (tratate sau netratate termic) n-au influențat semnificativ asupra germinării semințelor de tomate. Totuși, filtratul din *Anabaena* supus tratării termice s-a dovedit a fi mai eficient decât suspensia celor două alge și filtratul de *Nostoc*. Un efect mai semnificativ a fost observat asupra creșterii răsadului de tomate în sol nisipos cu inoculul de *Anabaena* în combinație cu amelioratorul sintetic pe bază de poli(acriamidă de sodiu – Broadleaf-P4 0,2% W/W, manifestată prin majorarea lungimii rădăcinii și a mugurilor, precum și a masei lor verzi și uscate [2].

Cercetările ulterioare [44] au demonstrat rolul benefic al unor substanțe bioactive eliberate de algele cianofite asupra ratei de germinare a semințelor de *Senna alexandrina*, fiind evaluate și modificări metabolice la această plantă medicinală. Autorii menționați au raportat că exometaboliții produși de *Nostoc piscinale* și de *N. muscorum* au majorat rata de germinare a semințelor de *Senna* până la 100 și 90%, respectiv, după 60 de ore. De asemenea, s-a depistat că exudatele algale conțin concentrații variabile de acid abscisic (ABA), acid giberelic (GA3), indol acid acetic (IAA) și alți metaboliți, care ar putea fi implicate în calitate de agenți alelochimici. Ei au constatat, de asemenea, o creștere semnificativă a proteinelor și glucidelor solubile totale, la tratare cu exudate algale, în special cu cele de *N. piscinale* și *N. muscorum*.

Au fost studiate efectele alelopatice ale exudatelor de *N. muscorum*, *N. piscinale* și *Anabaena fertilissima* asupra unor componente biochimice ale plantei comestibile *Cynara cardunculus* [44]. Analiza cantitativă a exudatelor algelor cianofite au evidențiat prezența fitohormonilor, aminoacizilor, compușilor solubili în apă cu conținut de azot și a zaharurilor reducătoare. Datele obținute au evidențiat o creștere semnificativă în totalul de zahăruri solubile și a conținutului de proteine în semințele germinate tratate cu diferite exudate algale. În plus, tratamentul cu exudate algale stimulează rata de germinare a semințelor după 96 de ore.

Cu toate că algele cianofite pot servi și în calitate de agenți de biocontrol al acțiunii dăunătorilor asupra plantelor, ele au fost mai puțin utilizate în acest scop. Principalii agenți biologici care au fost studiați pentru controlul patogenic la plante sunt fungiile și bacteriile. Încă în 1995 a fost efectuată o analiză a datelor referitoare la evaluarea potențialului cianofitelor și al altor alge pentru utilizarea lor în controlul biologic al bacteriilor patogene la plante [22]. Caire și colaboratorii [8] au demonstrat că extractul apos de *N. muscorum* în concentrații diluate demonstrează eficiența lui în controlul biologic. În ultimele decenii, diferiți cercetători au studiat posibilitatea înlocuirii pesticidelor chimice cu componente naturale extrase din diferite plante și surse microalgale pentru utilizare în calitate de agenți insecticidici [Nassar et al., 1999], agenți acaricidici [3,11] și agenți fungici [16,45,61]. Aceste substanțe naturale posedă și acțiune letală asupra dăunătorilor și au rolul de a ocroti mediul ambiant. Intensificarea activității de cercetare, privind controlul biologic, este dictată de necesitatea de a elabora o schemă conceptuală a gestionării integrate a dăunătorilor, ca o abordare acceptabilă de control al afectării ecosistemului, iar realizarea acestui control biologic trebuie să devină una dintre componentele de bază în practicile de gestionare a dăunătorilor.

Algele cianofite joacă un rol important în menținerea biotei solului fără dăunători printr-un management adecvat, care permite asigurarea culturilor cu nutrienți și menținerea sănătății solului, ce reprezintă un sistem dinamic, în care componentele fizice, chimice și biotice sunt într-o stare de echilibru. Aplicarea insecticidelor chimice fără a ține seama de alte componente ale solului dereglează acest echilibru, ceea ce afectează productivitatea solului. Insecticidele exercită frecvent efecte inhibitoare sau stimulative asupra creșterii sau altor activități ale microorganismelor, fie în cultură pură sau în câmp. A fost demonstrată și activitatea insecticidă a algelor cianofite asupra a 4 insecte, ceea ce indică la posibilitatea de utilizare a lor în calitate de agenți în lupta cu insectele [33].

Cianofitele, în special cele azotfixatoare, reprezintă microorganisme importante care contribuie la fertilitatea solului. Aceste organisme joacă un rol evident în acest sistem prin furnizarea constantă de azot fixat și alte efecte benefice. Cea mai mare parte a algelor din sol și a microalgelor acvatice este sensibilă la insecticide datorită faptului că algele sunt angajate în fotosinteză [50], iar multe insecticide interferează cu acest proces.

Algele cianofite pot fi încorporate în sol nu doar ca materie organică, ci și ca sursă de enzime, deoarece acestea produc fosfatazele alcaline și acide extracelulare, care sunt active în soluție sau sunt situate în spațiul

periplasmatic al peretelui celular. Atât biomasa, cât și exopolizaharidele încorporate în sol, induc o promovare a creșterii altor microorganisme și sporirea activității enzimelor din sol, care participă la eliberarea de substanțe nutritive necesare plantelor [8].

Un rol nu mai puțin important revine algelor cianofite și în bioremedierea solului, datorită capacității lor înalte de biosorbție a metalelor grele. La fel ca și alte microorganisme, algele cianofite sunt capabile să acumuleze ioni metalici din mediul ambiant [36], inclusiv radionucleidele [9]. Mecanismele de rezistență a algelor cianofite la metale grele implică: factori de mediu, mecanisme specifice și non-specifice de protecție a celulei, dezvoltate ca răspuns al celulei la impactul toxic al metalului asupra speciei. Dintre mecanismele intracelulare de protecție un rol important ocupă mecanismul de biosorbție a metalelor grele bazat pe schimbul de ioni în peretele celular exterior, acoperit cu teci mucilaginoase care se comportă ca o „vacuolă externă”. Proprietățile de legare a metalului se datorează prezenței grupărilor anionice, în special a grupărilor carboxil, identificate în polimerul capsular. Acest grup de microorganisme ar putea avea o eficiență mai mare în biosorbție, în timpul creșterii lor în medii poluate. Această legare a metalelor sporește conținutul de materie organică în crustă [10], îmbunătățește rezistența solului la eroziunea provocată din cauza vântului și a apei. Importanța microorganismelor în consolidarea stabilității agregatelor de sol este bine cunoscută, fiind demonstrată agregarea sporită în cazul când solurile au fost inoculate cu alge sau cu alge cianofite [26]. Astfel, este evident rolul algelor în protecția solului și în dezvoltarea plantelor de cultură.

Algele cianofite sunt componente importante ale ecosistemelor aride și semiaride. Distribuția lor în natură indică starea de sănătate a mediului. În ultimii ani se investighează posibilitatea de folosire a algelor cianofite ca umidificator biologic al solului, deoarece teaca gelatinoasă, care acoperă celula sau trihomii, are capacitatea de a acumula vaporii de apă din atmosferă.

Astfel, algele cianofite sunt principalii agenți fotosintetici prezenți în solurile din întreaga lume, rolul ecologic al cărora este inestimabil și nu este încă pe deplin definit. Dintre efectele lor asupra sistemului plantă/sol pot fi evidențiate următoarele [50]:

- Excreția de acizi organici care majorează disponibilitatea și absorbția fosforului.
- Furnizarea de azot prin fixarea azotului biologic.
- Sporirea cantității de materie organică din sol.
- Eliminarea în procesul metabolismului a substanțelor bioactive extracelulare, care influențează creșterea și dezvoltarea plantelor vasculare. Acestea sunt: reglatorii de creștere a plantelor (PGRs), vitaminele, aminoacizii, polipeptidele, substanțele antibacteriene sau antifungice, care exercită biocontrolul asupra fitopatogenilor, precum și polimeri, în special exopolizaharide și exoenzime, care în comun influențează pozitiv structura și fertilitatea solului.
- Formarea crustei și stabilizarea agregării solului prin formarea de agregate a polizaharidelor extracelulare.
- Acumulatori de ioni metalici prezenți în mediul ambiant.

În continuare sunt expuse rezultatele unor cercetări referitoare la metodele de cultivare a algelor cianofite pentru obținerea inoculului pentru aplicare în calitate de biofertilizatori.

Cultivarea biomasei de alge cianofite ca biofertilizatori și metode de inoculare a lor în sol. Pentru cultivarea în aer liber a biomasei algelor cianofite ca sursă de biofertilizatori este necesară utilizarea unor tulpini specifice regionale. Conform datelor prezentate de unii cercetători, un amestec de 5 sau 6 tulpini regionale aclimatizate de alge cianofite este utilizat în general pentru inoculul inițial (starter). La cultivarea, de exemplu, a orezului sunt utilizate următoarele metode de obținere a inoculului de alge cianofite: a) metoda bazinului (rezervorului); b) metoda gropii căptușite cu polietilenă; c) metoda de teren și d) metoda pepinierei [58].

Metoda bazinului (rezervorului) presupune pregătirea cuvelor permanente sau tăvilor de tablă zincată de anumite dimensiuni (2 m x 3 m x 23 cm), care pot fi modificate în funcție de cantitatea de material produs. În dependență de suprafață, în bazin se introduc 8-10 kg de sol și se amestecă minuțios cu 200 g superfosfat. Tăvilor sunt umplute cu apă într-un strat de 5-15 cm, în funcție de condițiile locale și de rata de evaporare. pH-ul solului este păstrat la valoarea neutră – 7,0, prin adăugare de var. În scopul de a preveni infectarea cu insecte dăunătoare, la acest sol se adaugă orice insecticid corespunzător, de preferință carbofuran (3% granule). Cultura pură de alge cianofite azotfixatoare este adusă din laborator și introdusă în apa limpezită din tavă sau cuvă, după ce solul s-a stabilizat, apoi se expune la soare, în aer liber. Se adaugă apă intermitent pentru a compensa pierderea datorată evaporării. În timpul verii inoculatul crește viguros și formează un covor gros în

decurs de 7-10 zile. La această etapă, udarea este oprită, astfel încât covorul algal se usucă la soare și formează fulgi, care sunt colectați și stocați pentru utilizare pe teren. Fulgii sunt colectați și utilizați ca inocul pentru înmulțirea ulterioară. Procesul poate fi repetat de trei sau patru ori cu sol proaspăt, cu adaos de superfosfat și insecticide, după cum e descris mai sus. Două recolte de fulgi de alge cianofite, astfel produse, dă aproximativ 3-5 kg de material activ, suficient pentru a biofertiliza, de exemplu, un hectar de câmp de orez sau alte culturi [46,58].

Metoda gropii căptușite cu polietilenă este cea mai potrivită pentru fermierii mici și cei mijlocii la prepararea algelor ca biofertilizatori. În câmp sunt pregătite gropi mici, căptușite cu folii groase de polietilenă în care se cultivă algele azotfixatoare menite pentru algalizarea solului.

Metoda de teren este o versiune a metodei rezervorului, însă la o scară mai largă, folosită pentru a genera cantități mari de material algal biofertilizator. Câmpul de producție este împărțit în parcele, care sunt inundate cu un strat subțire de apă deasupra solului. Se utilizează superfosfat și același insecticid, la fel ca în metoda rezervorului. Apoi, pe suprafața apei se presoară inoculatul de alge cianofite. Nivelul apei este menținut întotdeauna intermitent. Pe vreme însorită, în cazul în care solul este argilos, termenul optim de creștere a algelor cianofite va fi de două săptămâni. După formarea unui covor des plutitor, udarea este oprită și fulgii algali după uscare la soare sunt colectați și depozitați în saci pentru a fi utilizați de fermieri. Procesul poate fi repetat pe aceleași parcele de 2-3 ori, doar cu adaos de superfosfat și insecticide, dar fără suplimentarea inoculului. Prin această metodă se atinge un randament mediu de biofertilizare algală de 16-30 kg pe un teren de 40 m² la fiecare recoltare. Adoptarea acestei metode în unele regiuni din India a oferit fermierilor o producție record de 15,6 tone boabe de orez /ha [58].

Cultivarea biomasei de alge cianofite se face prin intermediul uneia dintre metodele descrise mai sus, care include următoarele etape:

- Se pregătesc rezervoare cimentate, tăvi din foi inox sau de plastic sau gropi căptușite cu polietilenă, aliniat într-o zonă deschisă. Lățimea rezervoarelor sau a gropilor să nu fie mai mare de 1,5 m. Acest lucru va facilita manipularea corectă a culturii.
- Se transferă 4-5 kg sol (colectate de pe teren deschis) și se adaugă 100 g de superfosfat. În groapă la acest amestec se adaugă apă până la o înălțime de aproximativ 10 cm. Se amestecă cu var pentru a ajusta valoarea pH-ului până la 7. Se adaugă 2 ml de insecticid (de exemplu, malathion) pentru a proteja cultura de țânțari. Se amestecă bine și se lasă să se sedimenteze particulele de sol.
- Când apa se limpezește, se presară 100 g de inocul pe suprafața apei. La temperatura de 35-40°C dezvoltarea algelor cianofite atinge cota maximă. În această perioadă permanent se menține nivelul de apă la aproximativ 10 cm.
- După uscare, culturile de alge din sol se vor obține separat sub formă de fulgi. În timpul verii biomasa algală produsă este de circa 1 kg/m² de suprafață. Ea este colectată sub formă de pulbere, păstrată în saci de polietilenă, sigilați și livrați către fermieri.
- Fulgii de alge pot fi folosiți ca inocul inițial, în cazul repetării procedurii de cultivare.

Prin metoda de pepinieră se recomandă producerea biofertilizatorilor algali împreună cu plantele de cultură, răsădite în pepiniere. 15-20 kg de material de alge cianofite sunt ușor puse la biofertilizare eficientă pe un teren de 1,5 ha. Astfel, pământul nu este utilizat exclusiv doar pentru producția de biofertilizatori algali, însă este folosit mai eficient [30].

Biofertilizatorii sunt componente importante ale managementului integrat al nutrienților. Ei sunt rentabili din punct de vedere economic și ecologic și pot servi totodată ca sursă de substanțe nutritive pentru plante. Algele cianofite reprezintă una dintre sursele naturale regenerabile pentru a suplimenta sau substitui îngrășămintele chimice și agenții de biocontrol în sisteme agricole durabile. Aceste îngrășăminte biologice potențiale vor juca un rol-cheie în productivitatea și durabilitatea solului, precum și în protejarea mediului înconjurător, fiind ecologice și cu costuri mai eficiente pentru fermieri.

Imobilizarea cianobacteriilor într-o matrice solidă, cum ar fi spuma de poliuretan pentru producerea de amoniac, maximizarea productivității în câmpurile agricole și fixarea azotului endofitic în câmpurile cu grâu sunt considerate tehnologii potențiale pentru viitor [18,19].

Este propusă și imobilizarea tulpinii de *Nostoc ANTH* pe alginat de Na, care a demonstrat păstrarea viabilității culturii până la 3 ani, chiar și în cazul când inoculul de *Nostoc* în alginat era lăsat dehidratat timp de 3-4 luni, apoi se efectua periodic hidratarea lui cu mediu de cultură. În experiențe de laborator a fost

demonstrată și capacitatea nostocului imobilizat pe alginat de a forma asociații cu tulpinile de grâu. Totuși, din cauza costului majorat al alginatului acest suport ar putea fi utilizat doar pentru păstrarea culturii viabile de *Nostoc* și mai puțin pentru fertilizare [28]. În scopul imobilizării algelor cianofite pentru păstrare și utilizare ca biofertilizatori ar putea sluji suporturile naturale ieftine, biodegradabile, cum sunt paie sau alte resturi vegetale.

Așadar, algele cianofite existente în sol sunt rezerve potențiale importante pentru agricultura ecologică, servind ca biofertilizatori (pentru algalizarea solului) sau amelioratori ai solului [65]. Aplicarea lor în practică rămâne însă limitată din cauza cunoștințelor incomplete privind ecologia microbială a solului, ecofiziologia, formula produsului și tehnologiile de utilizare. Primul pas spre o agricultură ecologică constituie selectarea sușelor de alge cianofite din diferite regiuni ale țării și separarea lor în culturi pure. Următoarea etapă constă în elaborarea tehnologiilor de cultivare și de obținere a biomasei pentru algalizarea solului. Este necesară și testarea ulterioară a inocului ca biofertilizator la cultivarea anumitor plante pe soluri concrete. Etapa finală în acest proces va constitui elaborarea tehnologiei de obținere a lor pentru sporirea productivității culturilor agricole. Producerea biofertilizatorilor în proporții mici și mijlocii prin tehnologii prietenoase mediului ar diminua consumul de îngrășăminte azotate și ar deschide noi perspective în asigurarea populației cu alimente ecologice și benefice pentru sănătatea populației.

Bibliografie:

1. AHMED, A.A.S. *Cyanobacterial application for the improvement of soil fertility*: M. Sc. Thesis, Botany Dept., Fac. of Science, Beni-Suef University, Egypt, 2009.
2. ALI AL-KHIAT, S.H. *Effect of Cyanobacteria as a Soil Conditioner and Biofertilizer on Growth and Some Biochemical Characteristics of Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) Seedlings*: Thesis for Degree of Master of Science (M. Sc.) Microbiology (Algae), 2006.
3. AMER, S.A.A., MOHAMED, S.M., EL-GENGAIHI, S et.al. Acaricidal activity of lipoidal matter of different plant extracts against the two-spotted mite. In: *Tetranychus urticae koch. Insect. Sci. Appl.*, 2000, vol.20, no.3, p.191-194.
4. BERGMAN, B., GALLON, J.R., RAI, A.N., et.al. N₂ fixation by non-heterocystous cyanobacteria. În: *FEMS Microbiol. Rev.*, 1997, vol.19, p.139-185.
5. BERMAN-FRANK, I., CHEN, Y., GERCHMAN, Y. et.al. *Inhibition of nitrogenase by oxygen in marine cyanobacteria controls the global nitrogen and oxygen cycles*, 2005, vol.2, p.261-273.
6. BOLYSHEV, N., NOVICHKOVA-IVANOVA, L. The algal flora of initial stages of soil formation on blanket loam under the condition of a lysimeter. In: *Bot. Zurn. (Moscow & Leningrad)*, 1978, vol.63, p.690-696.
7. BURRIS, R., ROBERTS, G. Biological nitrogen fixation. In: *Annal Rev. Nutr.*, 1993, vol.13, p.317-335.
8. CAIRE, G., DE CANO, M., PALMA, R. et.al Changes in soil enzyme activities following additions of cyanobacterial biomass and exopolysaccharide. In: *Soil Biology & Biochemistry*, 2000, vol.32, no.13, p.1985-1987.
9. CECAL, A., RUDIC, V., GULEA, A. et al. Recuperation of uranyl ions from effluents by means of microbiological collectors. In: *Waste Management*, 1997, vol.17, no.1, p.97-99.
10. DANIN, A., BAR-OR, Y., YISRAELI, T. The role of Cyanobacteria instabilisation of sand dunes in southern Israel. In: *Ecol. Mediterr.*, 1989, vol.15, p.55-64.
11. DUKE, S., DAYAN, F.E., RIMANDO, A.M. Chemicals from nature for weed management. In: *Weed Sci.*, 2002, vol.50, no.2, p.138-151.
12. EL-AYOUTY, Y. *Soil inoculation valuable by blue-green algae and their effects on yield attributes of different rice varieties*. Proc., 6th Egyptian. November 24-26, Bot. Con. Cairo Univ., 1998, vol.11, p.221-330.
13. EL-ZEKY, M., EL-SHAHAT, R., METWALY, G.et.al. Using Cyanobacteria or Azolla as alternative nitrogen sources for rice production. In: *J. Agric. Mansoura Univ.*, 2005, vol.30, no.9, p.5567-5577.
14. GUPTA, A., LATA, K. Effect of algal growth hormones on the germination of paddy seeds. In: *Hidrobiologia*, 1964, vol.24, no.1-3, p.430-434.
15. IBRAHEEM, I. Cyanobacteria as alternative biological conditioners for bioremediation of barren soil. In: *Egyptian J. Phycol.*, 2007, vol.8, p.99-116.
16. IBRAHEEM, I., ABDEL-RAOUF, N. Allelopathic activity of some local cyanobacterial extra-metabolites against some pathogenic bacteria. In: *Egypt. J. Phycol.*, 2007, vol.8, p.120-122.
17. KANEKO, T., NAKAMURA, Y., WOLK, C., et.al. Complete genomic sequence of the filamentous nitrogen-fixing cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120. In: *DNA Res.*, 2001, vol.8, p.205-213.
18. KANNAIYAN, S. *Biotechnology of Biofertilizers*. Editor Spriger, 2002. 375 p. ISBN: 9781402002199
19. KARTHIKEYAN, N., PRASANNA, R., LATA, N. et al. Evaluating the potential of plant growth promoting cyanobacteria as inoculants for wheat. In: *European Journal of Soil Biology*. 2007, vol.43, no.1, p.23-30.

20. KAUSHIK, B. Use of cyanobacterial biofertilizer in rice cultivation: A Technology Improvement. In: G.SUBRAMANIAN, B.D. KAUSHIK, G.S. VENKATARAMAN. *Cyanobacterial Biotechnology*. Editor Science Publ. Inc. USA; 1998, p.211-222.
21. KOMÁREK, J., CEPÁK, V. Cytomorphological characters supporting the taxonomic validity of Cyanothecae (Cyanoprokaryota). In: *Plant. Syst. Evol.*, 1998, vol.210, no.1-2, p.25-39.
22. KULIK, M. The potential for using Cyanobacteria (blue-green algae) and algae in the biological control of plant pathogenic bacteria and fungi. In: *Eur. J. Plant. Pathol.*, 1995, vol.101, no.6, p.585-599. ISSN 0929-1873
23. LADHA, J., REDDY, P. Nitrogen fixation in rice systems: state of knowledge and future prospects. In: *Plant Soil.*, 2003, vol.252, p.151-167.
24. LIBERTON, M., AUSTIN JR, I., BERG, R. et al. Unique thylakoid membrane architecture of a unicellular N₂-fixing cyanobacterium revealed by electron tomography. In: *Plant. Physiol.*, 2011, vol.155, no.1, p.1656-1666.
25. LUGTENBERG, B.J., DE WEGER, L., BENNETT, J. Microbial stimulation of plant growth and protection from disease. In: *Current Opinion in Microbiology*, 1991, vol.2, no.3, p.457-464.
26. LUTZOW, M., KOGEL-KNABNER, I., EKSCHEMITT, K. et al. Stabilization of organic matter in temperate soils: mechanisms and their relevance under different soil conditions. In: *European Journal of Soil Science*, 2006, vol.57, no.4, p.426-445.
27. MAQUBELA, M.P., MNKENI, P.N.S., MALAM-ISSA, O. Nostoc cyanobacterial inoculation in South African agricultural soils enhances soil structure, fertility and maize growth. In: *Plant. Soil.*, 2009, vol.315, p.79-92.
28. MAYASHREE, B. Entrapped cyanobacteria: Implications for biotechnology. In: *Indian Journal of Biotechnology*, 2005, vol.4, no.4, p.209-215.
29. MEEKS, J., ELHAI, J., THIEL, T. et al. An overview of the genome of *Nostoc punctiforme*, a multicellular, symbiotic cyanobacterium. In: *Photosynth., Res.*, 2001, vol.70, p.85-106.
30. METTING, B., PYNE, J.W. Biologically active compounds from microalgae. In: *Enzyme Microbiol. Technol.*, 1986, vol.8, no.7, p.386-394.
31. MISRA, S., KAUSHIK, B. Growth promoting substances of Cyanobacteria. I. Vitamin and their influence. In: *FAO Soils. Bull.*, 1989, vol.46, no.1, p.1-52.
32. MULLIGAN, M., HASELKORN, R. Nitrogen-fixation (nif) genes of the cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120: the *nzjB-fdxN-nifS-nzjU* operon. In: *J. Biol. Chem.*, 1989, vol.264, p.19200-19207.
33. NASSAR, M.M.I., HAFEZ, S., NAGATY, I. et al. Insecticidal activity of Cyanobacteria against four insects, two of medical importance and two agricultural pests with reference to the action on albino mice. In: *Egyptian Soc. Parasitol.*, 1999, vol.29, no.3, p.939-949.
34. PAUDEL, Y.P., PRADHAN, S., PANT, B. et al. Role of blue green algae in rice productivity. In: *Agric. Biol. J. N. Am.*, 2012, vol.3, no.8, p.332-335. ISSN Online: 2151-7525
35. PORTA, D., RIPPKA, R., HERNÁNDEZ-MARINÉ, M. Unusual ultrastructural features in three strains of Cyanothecae (cyanobacteria). In: *Arch. Microbiol.*, 2000, vol.173, p.154-163.
36. RANA, L., CHHIKARA, S., DHANKHAR, R. Assessment of Growth Rate of Indigenous Cyanobacteria in Metal Enriched Culture Medium. In: *Asian J. Exp. Biol. Sci.*, 2013, vol.4, no.3, p.465-471.
37. RAOUF, N., AL-HOMAIDAN, A., IBRAHEEM, I. Agricultural importance of algae. In: *African Journal of Biotechnology*, 2012, vol.11(54), p.11648-11658.
38. RAYMOND, J., SIEFERT, J., STAPLES, C. The natural history of nitrogen fixation. In: *Mol. Biol. Evol.*, 2004, vol.21, p.541-554.
39. RIPPKA, R., DERUELLES, J., WATERBURY, J. et al. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. In: *J. Gen. Microbiol.*, 1979, vol.111, p.1-61.
40. ROBSON, R., POSTGATE, J. Oxygen and hydrogen in biological nitrogen fixation. In: *Annual Rev. Microbiol.*, 1980, vol.34, p.183-207.
41. RODRIGO, V., EBERTO, N. Seasonal changes in periphyton nitrogen fixation in a protected tropical wetland. In: *Biol. Fertil. Soils.*, 2007, vol.43, p.367-372.
42. ROGER, P.-A. Rice field cyanobacteria: ecology, contribution to soil fertility and practical utilisation. In: MOROT-GAUDRY J.F. (ed.) *Nitrogen assimilation by plants: physiological, biochemical and molecular aspects*. Enfield, New Hampshire: Science Publ., 2001, p.199-226. ISBN 2-7380-0716-3
43. RUBIO L., LUDDEN, P. Biosynthesis of the iron-molybdenum cofactor of nitrogenase. In: *Annual Rev. Microbiol.*, 2008, vol.62, p.93-111.
44. SAFFAN, E., MOHAMED, A. Response of *Senna alexandrina* to cyanobacterial exudates. In: *Az. J. Pharm. Sci.*, 2001, vol.27, p.266-279.
45. SAFONOVA, E., REISSER, W. Growth promoting and inhibiting effects of extracellular substances of soil microalgae and cyanobacteria on *Escherichia coli* and *Micrococcus luteus*. In: *Phycol. Res.*, 2005, vol.53, p.189-193.
46. SAHU, D., PRIYADARSHANI, I., RATH, B. Cyanobacteria - as potential biofertilizer. CIBTech. In: *Journal of Microbiology*, 2012, vol.1, no.2-3, p.20-26. ISSN 2319-3867

47. ȘALARU, V.V., ȘALARU, V.M. *Procedee de tratare a semințelor de castraveți înainte de semănare*: Brevet de invenție, MD 2998, BOPI 2006, nr.3, p.22-23.
48. ȘALARU, V.M., ȘALARU, V.V., ANDRONIC, E. și al. Unele rezultate ale studierii algoflorei efectuate în USM în ultimii 10 ani. În: *Analele Științifice ale USM, Seria „Științe chimico-biologice”*, 2006, p.35-45.
49. ȘALARU, V.V., ȘALARU, V.M., CHICU, N., DUDNICENCO, T. Algele și rolul lor în sporirea fertilității solului. În: *Serviciul agrochimic la 4 decenii de afirmare*, 2004, p.113-121.
50. SHARMA, R., KHOKHAR, M.K., JAT, R.L. et al. Role of algae and cyanobacteria in sustainable agriculture system. In: *Wudpecker Journal of Agricultural Research*, 2012, vol.1, no.9, p.381-388. ISSN 2315-7259
51. SHEN-RUI, Z., SHEN, R.Z. A broad spectrum biopesticide type biofertilizer anaerobic fermentation effluent and plant adverse resistance. In: *Acta. Agr. Shanghai*, 1997, vol.13, no.2, p.89-96.
52. SILKE, R., VIGDIS, T., FRIDA, L. Nitrogen availability decreases prokaryotic diversity in sandy soils. In: *Biol. Fertil. Soils.*, 2007, vol.43, p.449-459.
53. SIMPSON, F., BURRIS, R. A nitrogen pressure of 50 atmospheres does not prevent evolution of hydrogen by nitrogenase. In: *Science*, 1984, vol.224, p.1095-1097.
54. SINGH, N., DHAR, D. Nitrogen and phosphorous scavenging potential in microalgae. In: *India J. Biotechnol.*, 2007, vol.6, p.52-56.
55. STEWART, W. Algal fixation of atmospheric nitrogen. In: *Pl. Soil.*, 1970, vol.32, p.555-588.
56. STRICK, W., STADEN, J., VAN-STADEN, J. Screening of some South African seaweeds for cytokinin-like activity. In: *South Afr. J. Bot.*, 1997, vol.63, no.3, p.161-164.
57. SUBHASHINI, D., KAUSHIK, B. Amelioration of sodic soils with blue-green algae. In: *Australian Journal of Soil Research*, 1981, vol.19, no.3, p.361-366.
58. VAISHAMPAYAN, A., SINHA, R.P., HADER, D.-P. et al. Cyanobacterial biofertilizers in rice agriculture. In: *Botanical Review*, 2001, vol.67, no.4, p.453-516.
59. VARGA, L., SZIGETI, J., ORDOG, V. Effect of *Spirulina platensis* biomass enriched with trace elements on combinations of starter culture strains employed in the dairy industry. In: *Milchwissen-Schaft*, 1999, vol.54, no.5, p.247-248.
60. VENKATARAMAN, G. Blue-green algae for rice production-a manual for its promotion on rice plant. In: *Proc. Indian Nat. Sci., Acad., Part-B, Biol. Sci.*, 1981, vol.55, no.4, p.295-300.
61. VOLK, R., FURKERT, F. Antialgal, antibacterial and antifungal activity of two metabolites produced and excreted by cyanobacteria during growth. In: *Microbiol. Res.*, 2006, vol.161, p.180-186.
62. WATANABE, A., ITO, R., KONISHI, C. Effect of nitrogen fixing blue green algae on the growth of rice plants. In: *Nature*, 1951, vol.168, p.748-749.
63. WWW.alge.md
64. ZEHR, J.P. Nitrogen fixation by marine cyanobacteria. In: *Trends in microbiology*, 2011, vol.19, no.4, p.162-173.
65. ZIMMERMAN, W.J. Microalgal biotechnology and applications in agriculture. In *the book: Soil microbial ecology: applications in agricultural and environmental management*. Editor Metting, F.B., Jr., 1992, p.457-479, ISBN 0-8247-8737-4
66. ВИНОГРАДОВА, О.Н. *Синезеленые водоросли экстремальных местообитаний*: Автореферат дис. на соиск. учёной степени доктора биол. наук. Киев, 2013.
67. ФЕДОРОВ, Е.К. *Экологический кризис и социальный прогресс*. Москва: Гидрометеиздат. 1977. 175 с.
68. ШАЛАРЬ, В.М., НАБЕРЕЖНЫЙ, А.И. Роль сине-зеленых водорослей в водоемах Молдавской ССР. В: *Экология и физиология сине-зеленых водорослей*. Москва-Ленинград, 1965.

Notă: Lucrarea este publicată cu susținerea financiară a Proiectului instituțional 11.817.08.44A

Prezentat la 12.09.2013