INFLUENȚA UNOR SĂRURI CU AZOT, FOSFOR ȘI POTASIU ASUPRA CREȘTERII ALGEI CHLAMYDOMONAS REINHARDI.

Dr. Virgil Olimid
Prof. Daniela Olimid

Cercetările de nutriție minerală la algele verzi unicelulare constituie una dintre problemele actuale pe care le studiază fiziologia vegetală. Algele verzi unicelulare și pluricelulare sînt răspîndite pretutindeni în soluri și în majoritatea bazinelor acvatice dovedind o mare capacitate de a se adapta la diversele modificări ale condițiilor de viață.

Importanța deosebită pe care biologia o acordă cunoașterii ecologiei algelor se datorește faptului că acestea se pretează foarte bine la cultura în masă, înmulțirea lor rapidă ducînd la obținerea de recolte în tot timpul anului, în condiții de cultură controlate. Deasemeni compoziția chimică a biomasei algelor este calitativ superioară celei obținute de la plantele superioare de cultură, avînd un conținut mult mai ridicat în substanțe proteice.

Pentru aceste considerente am studiat în anul 1974 influența nutriției minerale cu azot, fosfor și potasiu asupra creșterii algei Chlamydomonas reinhardi, cultivată la lumină artificială în condiții de laborator pe două medii de cultură.

MATERIAL ȘI METODE

Experiențele au fost efectuate în cursul anului 1974 în laboratorul de Fiziologia plantelor al Universității din Craiova. Ca material de experiență am folosit alga verde unicelulară Chlamydomonas reinhardi în cultură pură, obținută de la Institutul de Științe Biologice din București.

Inițial alga a fost crescută pe mediul nutritiv cu agar preparat cu soluție Knop 25% după care a fost trecută pe medii nutritive lichide.

S-au folosit vase de cultură din sticlă cu capacitatea de 1,5 l în care s-a introdus cîte 1 l soluție nutritivă. Vasele de cultură au fost expuse la lumină artificială de 6000 de lucşi obținută cu ajutorul unor tuburi luminiscente. Pentru omogenizarea permanentă a soluției şi aerarea ei ca şi pentru expunerea la lumină a tuturor algelor, mediul nutritiv a fost agitat folosindu-se un electrovibrator cu membrană.

Dintre numeroasele medii de cultură recomandate în literatură de specialitate am folosit mediul KNOP—PRINGSHEIM şi MOYSE diluat cu următoarele compoziții :

MEDIUL KNOP-PRINGSHEIM

KNO_3 — 1 g/l
$Ca(NO_3)_2$ — 0,1 g/l
K_2HPO_4 — 0,2 g/l
$Mg \cdot SO_4 \cdot TH_2O$ — 0,1 g/l
$FeCl_3$ — 0,001 g/l

MEDIUL MOYSE DILUAT

KNO_3 — 0,25 g/l
$NaNO_3$ — 0,25 g/l
K_2HPO_4 — 0,5 g/l
$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ — 0,25 g/l
$Fe_2(SO_4)_3$ — 0,005 g/l
EDTA de Na — 0,032 g/l
Sol. A 5 — 0,5 cc/l
Sol. B 6 — 0,5 cc/l

Doza de azot în substanță activă la mediul Knop-Pringsheim standart este de 140 mg N/l ($^1/_4$) iar le mediul Moyse dil. de 81 mg N/l (V_1). Cantitatea de azot din soluția nutritivă a fost modificată în raport cu concentrația acestui element în soluția standard. Pentru mediul Knop-Pringsheim concentrația azotului din variantele experimentale a fost : 140 mg N/l (varianta de control), 210 mg N/l, 280 mg N/l, 112 mg N/l, 70 mg N/l, 42 mg N/l şi 28 mg N/l.

La mediul Moyse dil. dozele de azot au fost următoarele : 81 mg N/ (varianta de control) 121 mg N/l, 162 mg N/l, 242 mg N/l, 50 mg N/l şi 30 mg N/l.

Pe ambele medii a fost modificată sursa de azot folosindu-se separat sau în amestec următoarele săruri : KNO_3, NH_4NO_3 şi uree.

Influența diferitelor concentrații de fosfor şi potasiu asupra creşterii algei a fost urmărită numai pe mediul Knop-Pringsheim. Dozele de fosfor folosite au fost : 80 mg P_2O_5/l, 120 mg P_2O_5/l, 160 mg P_2O_5/l 60 mg P_2O_5/l şi 20 mg P_2O_5/l iar pentru potasiu : 460 mg k/l (varianta de control), 550 mg k/l, 340 mg k/l, 230 mg k/l şi 76 mg k/l.

Creşterea algei a fost determinată după 6 zile de cultură prin numărarea celulelor din suspensie cu ajutorul camerei micrometrice Thoma şi exprimată în milioane de celule în cc. de suspensie.

REZULTATE OBȚINUTE ȘI DISCUȚII

Pe mediul Knop-Pringsheim cu diferite doze de azot (fig. 1) creșterea cea mai intensă a algei a avut loc în varianta cu 210 mg N/1 (V_2) în comparație cu toate celelalte variante experimentale. Pe mediul cu 280 mg N/1 numărul de celule din suspensie este mai scăzut în comparație cu al variantei cu 210 mg N/1 dar mai ridicat ca al variantei de control. La concentrații de azot mai scăzute ca în soluția standard creșterea algei este inhibată proporțional cu micșorarea dozei de azot.

Pe mediul Moyse diluat caracterizat printr-o concentrație mai scăzută de azot comparativ cu mediul Knop-Pringsheim cel mai bine s-a dezvoltat alga în mediul cu 162 mg N/1 (V_3) (fig. 2). La o concentrație mai ridicată a azotului în soluție creșterea algei este inhibată, prezentînd valori mai mici ca ale variantei de control, apropiate de cele ale variantei cu 50 mg N/1 (V_5).

Pe mediul Knop-Pringsheim cu diferite surse de azot (fig. 3) se constată că alga crește cel mai bine în cazul în care sursa de azot este reprezentată dintr-un amestec de KNO_3, NH_4NO_3 și uree. Valori apropiate de ale variantei de control s-au obținut în cazul în care ca sursă de azot s-a folosit $KNO_3+NH_4NO_3$. În cazul folosirii ureei ca sursă de azot, fie singură, fie în amestec cu KNO_3 se constată că are loc o inhibare a creșterii algei.

Pe mediul Moyse diluat cu surse diferite de azot (fig. 4) cea mai intensă creștere a algei s-a produs de asemenea, la varianta în care azotul a fost sub formă de $KNO_3+NH_4NO_3$ + uree. Ureea și în acest caz a produs o inhibare a creșterii algei. Înlocuirea întregii cantități de azotat de potasiu cu azotat de sodiu a dus la o scădere evidentă a ritmului de diviziune și o scădere a cantității de biomasă acumulată. Comparînd numărul de celule din varianta cu azotat de amoniu (V_5), cu cel din varianta cu azotat de amoniu introdus împreună cu azotatul de sodiu se constată că sodiul este absolut necesar în cantități mai mari ca pentru plantele superioare.

Pe mediul Knop-Pringsheim în cazul modificării concentrației fosforului din soluție (fig. 5) se constată că are loc o stimulare a creșterii algei în cazul măririi dozei de fosfor cu 50% față de soluția standard și anume la soluția cu 120 mg P_2O_5/1. Creșterea peste această valoare a concentrației fosforului din soluție nu a dus la o intensificare a diviziunii celulelor ci dimpotrivă a avut un ușor efect inhibitor. La o concentrație scăzută a fosforului în soluție, 20 mg P_2O_5/1 (V_5) creșterea algei este puternic inhibată.

În cazul modificării concentrației potasiului pe mediul Knop-Pringsheim (fig. 6) se constată că o creștere a acestuia peste valoarea din soluția standard nu a dus la o stimulare a diviziunii celulelor. Scăderea concentrației la 50 % (V_4) și respectiv 16,5 % din valoarea

potasiului în soluția standard a dus la o scădere semnificativă a creșterii celulelor algei.

Rezultatele obținute de noi în experiențe efectuate în laborator cu alga Chlamydomonas reinhardi sînt comparabile cu cele obținute în cercetări cu alte specii de alge verzi și albastre de Necșoiu (4,5) Sălăgeanu (7, 8), Sălăgeanu și Ionășescu (9), Țipa (10, 11).

La alga Chlamydomonas, Sălăgeanu (8) a găsit concentrația optimă pentru azotatul de amoniu de 0,35 g/l, constatînd că sensibilitatea este mai mare față de ionul NH^+_4 decît față de NO^-_3. În cazul fosforului același autor (8) a constatat că cea mai intensă acumulare de substanță uscată a avut loc în cazul unei concentrații de 0,05—0,1 g KH_2PO_4/l.
Această concentrație este mai scăzută în comparație cu aceea în care noi am obținut o intensificare a creșterii.

Alga a folosit atît azotul nitric cît și cel amoniacal și a crescut mai intens în cazul folosirii ambelor forme (1, 2, 9, 11).

Creșterea concentrației fosforului a dus la o creștere a numărului celulelor din suspensie pînă la o anumită valoare, ceea ce a arătat că ele nu pot suporta concentrații ridicate de fosfat. Scăderea concentrației a determinat inhibarea creșterii. Rodhe (6) a arătat însă ca alga Scenedesmus a crescut bine un anumit timp, chiar în lipsa fosforului. După datele de Ketchum (3) alga Chlorella pyrenoidosa a crescut și s-a dezvoltat bine pînă cînd a consumat tot fosforul din mediu.

CONCLUZII :

Din experințele efectuate de noi se pot desprinde următoarele concluzii :

1. Creșterea cea mai intensă a algei a avut loc la o concentrație de 210 mg N/l pe mediul Knop-Pringsheim și de 162 mg N/l pe mediul Moyse diluat.
2. În cazul folosirii diferitelor surse de azot, pe ambele medii creșterea algei a fost stimulată de folosirea în amestec a azotului de amoniu, azotatului de potasiu și ureei. Ureea folosită singură a determinat o inhibare a creșterii.
3. Pe mediul Knop-Pringsheim creșterea cea mai intensă s-a produs la o concentrație a fosforului de 120 mg P_2O_5/l. Creșterea concentrației potasiului peste valoarea din soluția standard nu a dus la o stimulare a diviziunii celulelor.

BIBLIOGRAFIE

1. BHATTACHARYYA, G.S., ROY, G.S., DUTTA, B.G., 3, 3, 1966.
2. FOGG G.E. — Proc. Roy. Soc. B. (Londra) 1952.
3. KETCHUM B.H., — Annual Rev. Plant. Physiol. 5, 55, 1954.
4. NECSOIU V., — Stud. şi cerc. de biol. Ser. Bot. 17, 6, 1965.
5. NECŞOIU V., — Stud. şi cerc. de biol., ser. Bot., 13, 14, 1968.
6. RODHE W. — Symbolae Botan. upsaliensis, (1), 1948.
7. SĂLĂGEANU N. — Revue roum. Biol. 10, 3, 1965.
8. SĂLĂGEANU N., — Revue. roum. Biol. ser. de bot., 12, 1, 1967.
9. SĂLĂGEANU N., IONĂSESCU L., — Analele Univ. Buc., Ser. biol. veg. 1970
10. ŢIPA L, — Stud. şi cerc. de biol., ser. bot., 21, 6, 1969.
11. ŢIPA L. — Rezumatul tezei de doctorat, Buc. 1974.

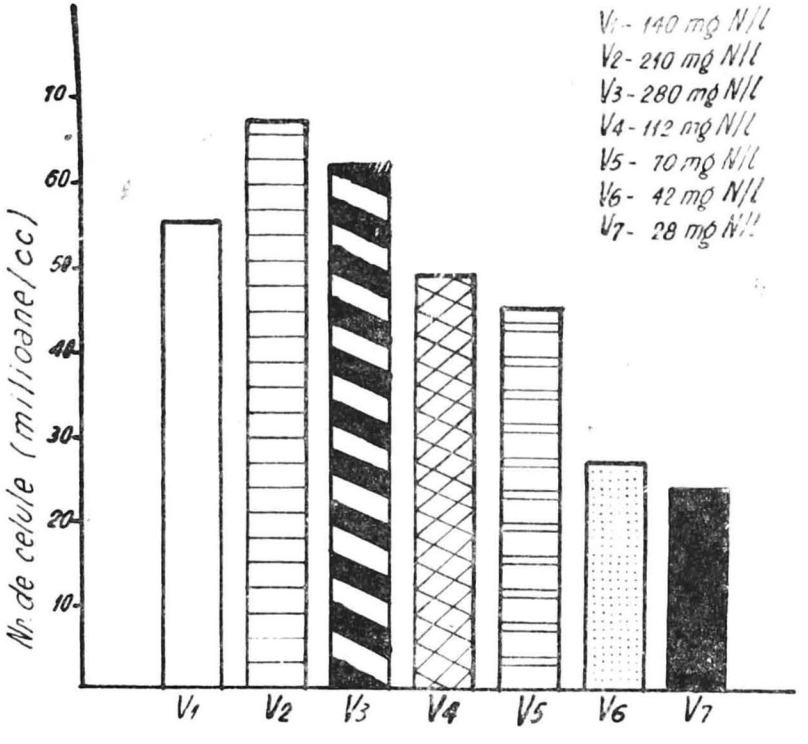

Fig. 1 Creşterea algei Chlamydomonas pe mediul Knop-Pringsheim cu diferite doze de azot.

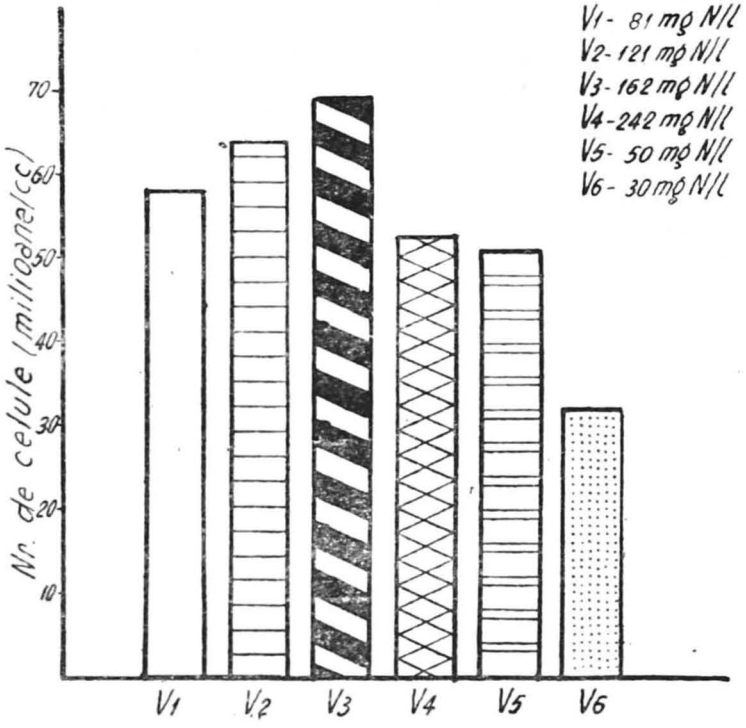

Fig. 2 Creşterea algei Chlamydomonas pe mediul Moyse dil. cu diferite concentraţii de azot.

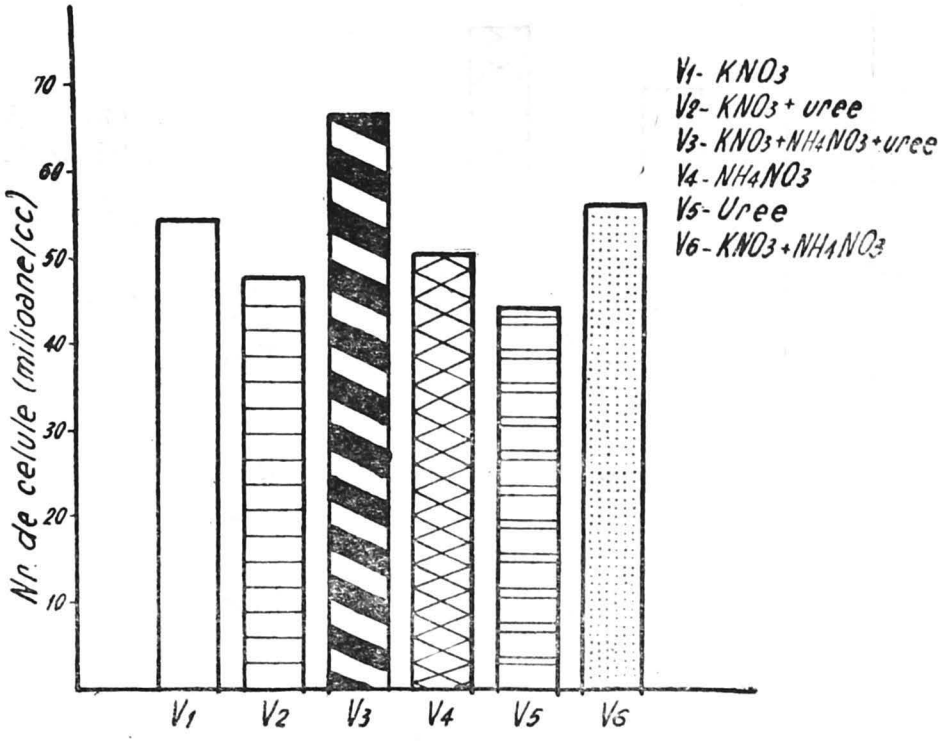

Fig. 3 Creşterea algei pe mediul Knop-Pringsheim cu surse diferite de azot.

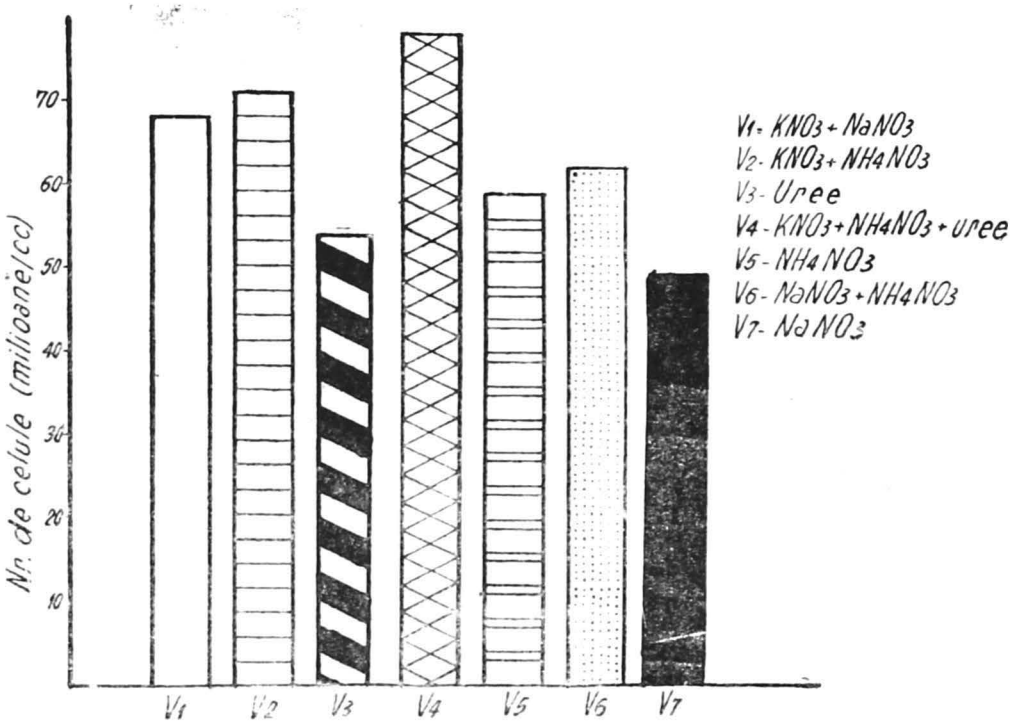

Fig. 4 Creșterea algei pe soluția nutritivă Moyse dil. cu surse diferite de azot.

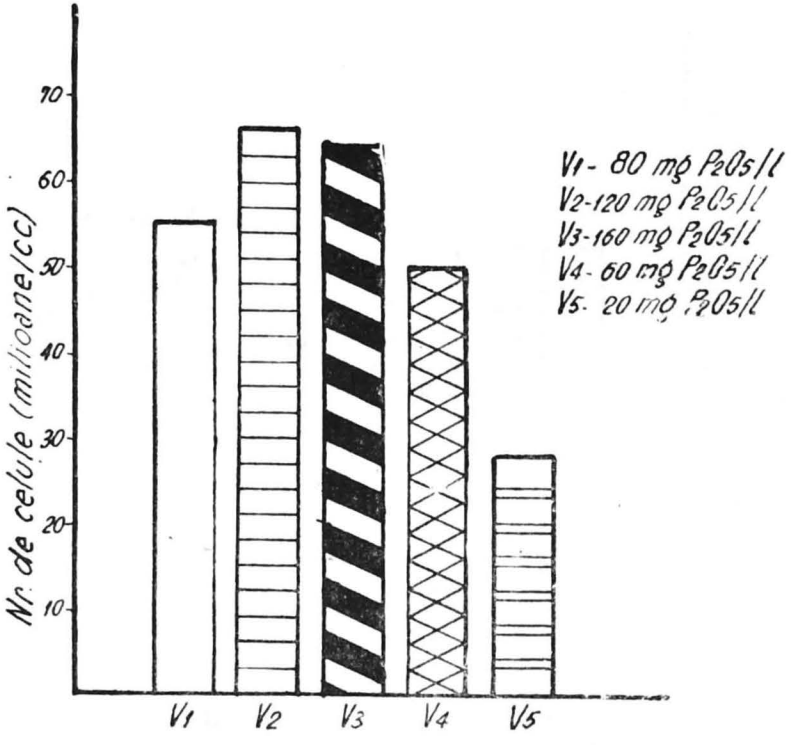

Fig. 5 Creşterea algei pe mediul Knop-Pringsheim cu concentraţii diferite de fosfor.

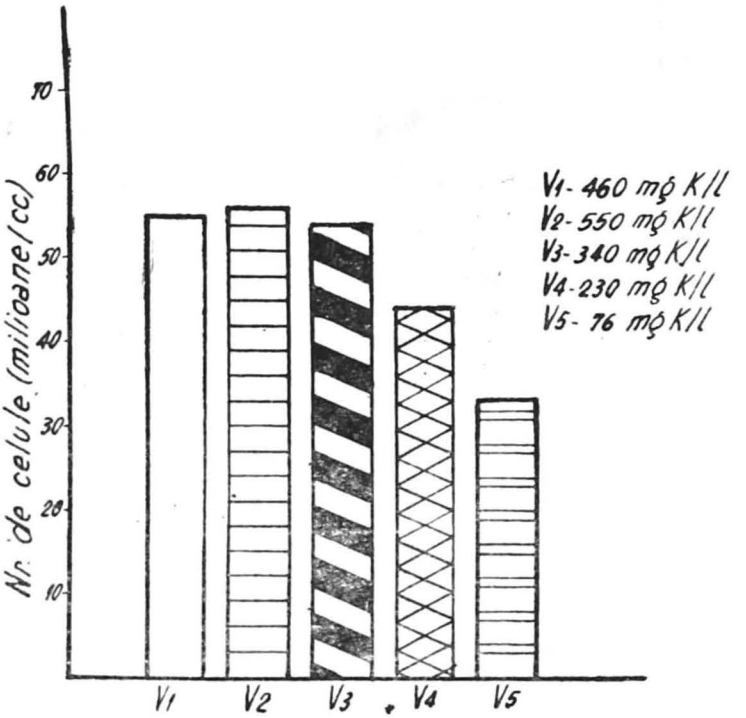

Fig. 6 Creşterea algei pe mediul Knop-Pringsheim cu concentraţii diferite de potasiu.