

UNIVERSITATEA DIN BACAU
Facultatea de Stiinte

Departamentul de Studii Postuniversitare

Specializarea : Protectia si valorificarea resurselor biologice

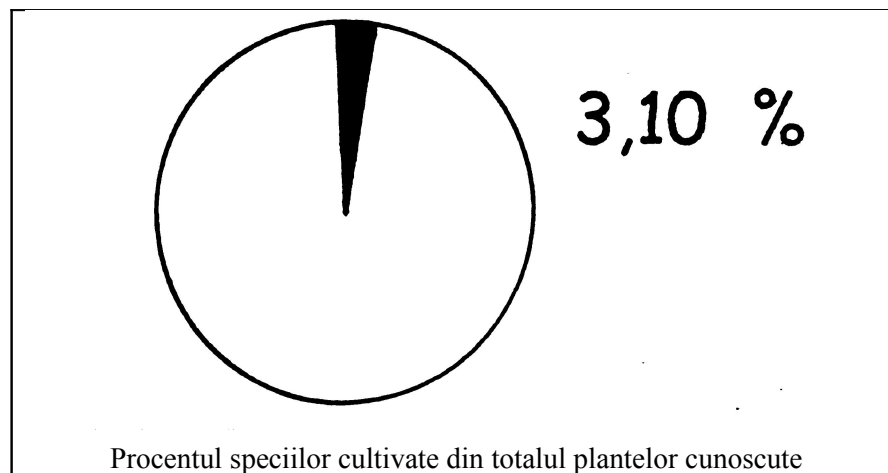
Disciplina:

CULTIVAREA DIRIJATĂ A ORGANISMELOR ACVATICE
VEGETALE:

**CULTURA ALGELOR PENTRU BIOMASA SI
PRINCIPII ACTIVE**

Note de curs
Lucrări de Laborator

Dr. Ioan Cărauş



Anul de studii 2007 - 2008

CULTIVAREA DIRIJATĂ A ORGANISMELOR ACVATICE VEGETALE : CULTURA ALGELOR PENTRU BIOMASA SI PRINCIPII ACTIVE

Dr. Ioan Cărbăuș

Cuprins:

Note de curs

Introducere	...	...	...	...	...	...	...	...	...	3
1. Preocupari si realizari in cunoasterea, cresterea dirijata si valorificarea algelor	...	...	...	...	...	...	...	...	...	12
2. Bazele ecofiziologice ale cultivarii dirijate a organismelor acvatice vegetale	...	...	...	...	...	...	...	...	...	13
3. Tehnologii de cultivare intensiva a microalgelor	...	...	...	...	...	...	...	...	...	28
4. Studiu de caz : Spirulina – proprietati, cultivare, utilizari	...	...	...	...	...	...	...	...	...	54
5. Perspective ale dezvoltarii acvaculturii pentru producerea si valorificarea biomasei vegetale	...	...	...	...	...	...	...	...	...	58

Lucrări de Laborator

1. Analiza unor comunitati naturale de alge pentru identificarea unor specii de interes pentru trecerea in acvacultura	...	...	...	...	...	...	...	...	...	70
2. Determinarea productiei de biomasa in sistemele de crestere a algelor	...	...	...	...	...	...	...	...	...	76
3. Obținerea si intretinerea de culturi algele in conditii de laborator	...	...	...	...	...	...	...	...	...	78
4. Lucrare auxiliara : Etalonarea micrometrului ocular	...	...	...	...	...	...	...	...	...	82

Bibliografie	...	...	...	...	...	...	...	...	...	84
---------------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	----

Anexa	...	...	...	...	...	...	...	...	...	87-98
--------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-------

Note de curs

Introducere

Insula Pastelui a fost unul dintre ultimele zone nelocuite de pe planeta unde s-au stabilit fiinte umane. Colonizata initial de polinezieni cu cca 1500 ani in urma, aceasta insula izolata, situata in Oceanul Pacific, la 3200 km vest de America de Sud, gazduia o societate agrara destul de evoluata deja prin secolul XVI. Insula Pastelui (162,5 km²) are o clima semiarida, care era initial ameliorata de o padure viguroasa care capta si mentinea apa. Cei cca 7000 locuitori ai insulei cultivau pamantul si cresteau pasari, pescuiau si locuiau in mici sate. Pe masura ce populatia insulei crestea, tot mai mult pamant era defrisat in favoarea culturilor, iar copacii ramasi erau taiati pentru a fi folositi drept combustibil, si pentru transportul/amplasarea cunoscutelor statui de obsidian. Lipsa lemnului a facut ulterior imposibila construirea barcilor de pescuit sau a caselor, inchizand o importanta sursa de proteine si obligand oamenii sa se mute in pesteri. Disparitia padurilor a mai provocat si accentuarea uscaciunii, eroziunea solului, diminuand si mai mult resursele de hrana. Pe masura amplificarii penuriei de hrana si a presiunii demografice, intre sate au izbucnit conflicte, sclavia a devenit ceva obisnuit, iar unii au recurs chiar la canibalism pentru a supravietui.

Fiind un teritoriu izolat, care nu ar fi putut sa-si procure cele necesare din alta parte, resursele sale s-au epuizat; la re-descoperirea insulei, de catre europeni, populatia aborigena disparuse.

Insula Pastelui ofera un tablou deosebit de fidel pentru ceea ce se petrece atunci cand o economie umana se extinde, in conditiile existentei unor resurse limitate. Astazi, in conditiile unei economii mondiale practic interconectate si interdependente, cand caracterul finit si limitativ al unor resurse devine tot mai evident, rasa umana, ca intreg, a atins punctul de rascruce in care ajunsesera locuitorii Insulei Pastelui in secolul al XVI-lea (Lester Brown, 1999).



Conceptul de **capacitate de sustinere** este folosit de multa vreme de biologi, insa pana de curand a fost doar arareori luat in considerare de catre economisti. El se refera la interactiunile dintre o anumita populatie, activitatile sale si mediul inconjurator, punand in lumina pragurile naturale care, altfel, ar putea fi greu de definit. In forma sa cea mai simpla, conceptul ne ajuta sa intelegem functionarea anumitor sisteme biologice, cum sunt padurile sau bazinele piscicole. Conceptul poate fi insa aplicat si la o tara sau chiar la intreaga planeta.

Un biolog poate calcula cu oarecare precizie capacitatea de sustinere a unui anumit sistem. O pasune naturala poate sustine pe timp nedefinit un anumit numar de vite, sau un umar mai mare de oi; depasirea densitatii optime a populatiei de consumatori va determina degradarea progresiva a pasunii respective. Un iaz piscicol poate suporta cresterea normala a

unei anumite cantitati de peste, care, la randul ei, poate satisface nevoia de proteine ale unui anumit numar de oameni. Padurile din jurul unui sat pot furniza lemn de foc sau de constructie pentru o populatie umana de o marime precisa, limitata.

Daca numarul de fiinte care depind de aceste resurse ajunge sa fie excesiv, atunci sistemele vor suferi distrugerii care pot afecta, in final, chiar existenta acestor resurse biologice.

Acest concept se poate aplica si la resursele de baza, cum sunt **pamantul si apa**.

Recent, Organizatia Natiunilor Unite pentru Alimentatie si Agricultura – FAO – in colaborare cu Institutul International pentru Analiza Sistemelor Aplicate, a publicat un studiu care analizeaza capacitatea pamantului de a sustine existenta populatiei in 117 tari in curs de dezvoltare. S-a calculat evolutia productivitatii pamantului luand in considerare pe de o parte fertilitatea naturala a iar pe de alta parte, nivelurile de investitii in agricultura, clasificate in trei trepte: scazut, moderat si inalt.

Studiul a ajuns la concluzia ca, la un nivel scazut de investitii in agricultura, in urmatorii 15 ani, cca 65 de tari, avand o populatie de cca 1,4 miliarde locuitori – nu vor fi in stare sa asigure nici macar un nivel minim de hrana. Populatia acestor tari va depasi cu cca 500 milioane numarul celor a caror existenta poate fi sustinuta, implicand necesitatea unei dependente masive de importul de alimente si ducand la infometare pe scara larga sau, mai probabil, generand ambele consecinte.

In conditiile utilizarii intregii game de investitii moderne in agricultura, numarul tarilor care nu vor fi in stare sa asigure alimentatia propriei populatii la nivel minim s-ar reduce la 19, cu o populatie de cca 110 milioane locuitori. Cu toate acestea, costul mare al acestor investitii alaturi de cresterea continua a datoriilor externe arata ca multe din aceste tari nu isi pot permite investitii in agricultura, peste un nivel scazut.

In fapt, aceste cifre subvalueaza problemele cu care sunt confruntate tarile in curs de dezvoltare. Situatiile sunt agravate de o serie de elemente precum:

- ♦ Chiar si din actualele suprafete de terenuri arabile – oricum insuficiente – o parte sunt supuse degradarii solurilor;
- ♦ O parte din suprafetele de teren capabile sa produca cereale pentru consumul uman sunt folosite pentru producerea hranei animalelor; o alta parte sunt folosite pentru culturi nealimentare, precum bumbacul, ceaiul sau cafeaua;
- ♦ In fine, in evaluarile de mai sus nu s-a luat in considerare faptul ca adesea, intreaga cantitate de alimente produse nu este distribuita in mod egal.

[Putem sa ne gandim daca si cum se regasesc aceste elemente, identificate la nivel mondial – in realitatile actuale din tara noastra; cunoscuta mai demult drept unul din marii producatori agricoli de pe continent - “Granarul Europei” – azi Romania importa o mare parte din alimentele de baza, inclusiv grau, porumb, carne etc].

□□□

Pe de alta parte, clasicul sistem care asigura productia agricola depinde extrem de mult de conditiile climatice, dovedindu-se uneori foarte fragil, nu doar la nivel local (ca urmare a unor fenomene de seceta, grindina, inundatii), ci chiar la scara continentala. Pentru a ilustra astfel de situatii, vom face o mica incursiune intr-un trecut nu prea indepartat.

Incepand din 1816, “anul fara vara” de pe intinse teritorii, foametea a cuprins aproape toate tarile Europei, producand miscari sociale care au framantat continentul timp de trei ani. Peste tot, guvernele se luptau sa mentina ordinea sociala, in timp ce un val de crime fara

precedent bantuia orasele. Elvetia era coplesita de valul de activitate criminala; in Franta, guvernul a cazut si s-a format un alt guvern.

Istoricii descriu “bandele de cersetori” care umpleau drumurile si implorau trecatorii. Intr-o relatere din epoca, un calator prin Burgundia anului 1817 arata ca “cersetorii sunt foarte numerosi pe strazi; la fiecare oprire o gloata de femei, copii si batrani inconjurau trasura”. In Elvetia, martori oculari spuneau ca numarul cersetorilor care impanzeau toate drumurile era atat de mare incat semanau cu adevarate armate. In ochii lor era disperare si, din cuvintele unui cronicar local – Ruprecht Zollikofer – “aveau pe obraz paloarea mortii”.

In Germania, prima dintre revoltele antisemite a izbucnit in orasul bavarez Würzburg in vara anului 1819, si, dupa ce foametea si fervoarea “revolutionara” a exacerbata tensiunile si resentimentele, aceasta s-a raspandit rapid in toata Germania. Europa tocmai isi revenea dupa razboaiele napoleoniene si a suferit multe schimbari. Dar, desi nimeni nu si-a dat seama atunci, cauza imediata a acestor suferinte si framantari sociale a fost o schimbare in compozitia atmosferei terestre, ca urmare a unei serii neobisnuit de mari de eruptii ale vulcanului Tambora, de pe insula Sumbawa, Indonezia, in primavara anului 1815. S-a estimat ca 10000 oameni au murit in eruptia initiala, si aproximativ 82000 au murit de foamete si boli in lunile urmatoare. Totusi, efectele cele mai grave asupra restului lumii nu s-au resimtit decat un an mai tarziu, timp in care praful rezultat din eruptie s-a raspandit in toata atmosfera si a determinat o reducere dramatica a cantitatii de lumina solara ce atingea suprafata Pamantului, determinand scaderea simtitoare a temperaturii. Alterarea drastica a modelului de climat relativ stabil a avut consecinte socio-economice majore: recolte slabe, criza de alimente si dezordini care aproape au atins nivelul de colaps social in Europa. Schimbarile de clima care au determinat aceasta criza nu au durat mai mult de 3 ani, timp in care majoritatea cantitatii de praful vulcanic din atmosfera s-a depus (dupa AL GORE – PAMANTUL IN CUMPANA. Ecologia si spiritul uman. Ed.Tehnica, Bucuresti - 1995).

□□□

Inainte de a continua, ar trebui sa facem o scurta incursiune in istoricul problematiei **asigurarii hranei omului.**

Aparitia si evolutia agriculturii, a carei istorie incepe in urma cu cca 10-11 mii de ani, a fost legata de cateva particularitati ecologice ale omului, legate de necesitatile sale biologice fundamentale deci, implicit, de existenta sa ca fiinta vie.

Agricultura si agroecosistemele au fost principalele “instrumente” prin care omul s-a desprins, din punctual de vedere al procurarii hranei, din reseaua trofica a ecosistemelor naturale si de sub tutela lor coercitiva si limitativa.

Aparitia agroecosistemelor l-a transformat pe om – dintr-o specie care ocupa in ecosistemele naturale o nisa relativ ingusta, profilata pe doua functii complementare – cea de culegator (ierbivor si frugivor), si cea de vanator (pradator) – intr-o specie capabila sa stapaneasca mai multe nise ecologice si, in consecinta, sa profeseze mai multe indeletniciri.

Dezvoltarea si diversificarea bazei alimentare, a fortelor si mijloacelor de productie implicate a relevat doua caracteristici ale fiintei umane, care il separa net de toate celelalte vietuitoare.

In primul rand, este tendinta populatiei umane de a **creste numeric peste posibilitatile** de furnizare a hranei pe care le pot oferi agroecosistemele si lanturile trofice ale ecosistemelor naturale.

Calcululele estimeaza ca “biomasa umana insumata” se cifreaza la peste 100 milioane tone (substanta uscata), ceea ce depaseste biomasa oricarei specii animale de pe Terra; cresterea – accelerata – a biomasei umane provoaca, pe plan local si global, modificarea raporturile dintre diferitele vietuitoare ce alcatuiesc resursele trofice din agroecosisteme si sisteme ecologice naturale. Ca urmare, apar dezechilibre care, in final, genereaza starile de criza relevate de problematica complexa si urgenta a populatiei globului.

In al doilea rand, specia umana se poate caracteriza ecologic prin faptul ca, de indata ce ea a iesit din retea trofica a ecosistemelor naturale, si-a inmultit necesitatile si, odata cu aceasta, a inceput sa utilizeze o cantitate de energie mai mare decat cea intrata in biosfera prin intermediul fotosintezei actuale. Aceasta cantitate de energie depaseste de 50-150 ori energia cheltuita de individul uman din societatile pre-agrar.

Specialistii care au studiat perspectivele agriculturii si ale alimentatiei umane, disting doua posibilitati de productie a hranei:

- agricultura conventionala;
(aceasta insemnand producerea de alimente pe baza energiei solare, prin intermediul plantelor ce se cultiva pe soluri, la care se adauga cresterea animalelor)
- agricultura + moduri neconventionale de productie a hranei
(agriculturii traditionale i se adauga abordari noi, precum cresterea plantelor pe suporturi artificiale in loc de sol, culturi de celule si tesuturi, culturi de bacterii pe petrol, celuloza si diferite deseuri, si, nu in ultimul rand – **acvacultura**).

In conformitate cu datele FAO, in prezent cca 9-12 % din suprafata uscatului este constituita din **terenuri arabile** (1,1 – 1,5 miliarde hectare). Se preconizeaza posibilitatea cresterii acestei suprafete pana la cca 2,3 miliarde hectare.

Pentru zonele temperate ale planetei, capabile sa asigure o singura recolta utila pe an, suprafata arabila necesara pentru intretinerea unei singure finite umane [“aria minima de nutritie”] variaza in cadrul agriculturii traditionale si industriale, in functie si de dieta, intre 0,1 ha si 1 ha per capita.

- O suprafata de 0,1 ha/persoana corespunde unei diete severe vegetariene, si, la suprafata totala arabila actuala, poate asigura hrana pentru **15 miliarde locuitori**;

- O suprafata de 0,3 – 0,6 ha/persoana corespunde unei diete mixte, in care 2/3 reprezinta hrana vegetala iar 1/3 – hrana animala; aceasta poate asigura hrana pentru **3-5 miliarde locuitori**;

- O suprafata de 0,6 – 1 ha/persoana corespunde unei diete mixte, in care 2/3 reprezinta hrana de origine animala, iar 1/3 – hrana de origine vegetala; aceasta poate asigura necesarul de hrana pentru **1,5 – 2 miliarde de locuitori**.

Dupa cum se constata, una dintre problemele majore ale omenirii – ce ramane deosebit de actuala si acum, la inceputul celui de al treilea mileniu al erei noastre – este aceea a satisfacerii necesitatilor de baza ale unei populatii umane in continua crestere numerica. Unul dintre factorii esentiali il constituie, alaturi de resursele de apa, **asigurarea necesitatilor de hrana**.

Din rapoartele diferitelor organizatii internationale, si in primul rand din datele FAO (Food and Agriculture Organization - Roma) si ale OMS (Organisation Mondiale de la Santé – Geneva), ambele incluse in structura ONU, rezulta doua aspecte semnificative ale problemei:

- Pe de o parte, **cresterea demografica mondiala**, in ciuda unor masuri de prevenire, inregistreaza un ritm accelerat, populatia umana a Terrei depasind 6 miliarde de locuitori; ratele cele mai inalte ale natalitatii se realizeaza tocmai in tarile sarace ale lumii;
- Pe de alta parte, distributia inegala a resurselor de hrana si a productiei agricole, in general, face ca peste 2/3 din populatia umana a planetei sa sufere de **malnutritie cronica**, situatie care este si ea in curs de agravare.

Malnutritia reduce capacitatea de munca a organismului, slabeste rezistenta acestuia si poate afecta chiar eficienta sistemului imunitar, in deosebi la organismele foarte tinere. Ca urmare, **in fiecare zi mor in medie cca 19000 de copii**, afectati de boli care, in absenta malnutritiei, nu ar fi fatale.

Ca rezultat al acestei situatii se inregistreaza mai multe tipuri de efecte socio-politice si economice. Dintre acestea, mentionam :

- Adancirea decalajului dintre tarile industrializate ale lumii si tarile sarace, numite si (uneori impropriu) “tari in curs de dezvoltare”;
- Sporirea impactului uman asupra unor componente importante ale capitalului natural, precum padurile tropicale, resursele piscicole ale oceanului planetar, rezervele de combustibili fosili, din dorinta tarilor sarace de a-si dezvolta economia prin exportul de materii prime catre tarile bogate ale lumii;
- Aparitia tendintei de amplificare a migratiei (inclusiv nelegale) spre tarile bogate, cu un nivel de viata superior;
- Producerea si amplificarea unor conflicte regionale;
- Extinderea si agravarea bazelor economice ale terorismului mondial.

In aceste conditii, **solutiile intrevazute** de specialisti in scopul rezolvarii problemelor vizeaza in principal urmatoarele directii de actiune.

- Extinderea terenurilor folosite pentru agricultura, pana la limita suportabilitatii de catre capitalul natural;
- Amplificarea utilizarii de fertilizatori si extinderea sistemelor de irigatie, in vederea sporirii recoltelor agricole;
- Combaterea bolilor si a daunatorilor, pentru reducerea la minim a pierderilor de productie datorate acestor factori;
- Realizarea unor soiuri de plante si a unor rase de animale cu capacitati superioare de productie, adaptate fiecarei zone geografice;

- Aplicarea unor procedee moderne de inginerie genetica pentru sporirea productivitatii culturilor;
- Programe de dezvoltare economica locala si regionala in tarile mai sarace, pentru facilitarea producerii/procurarii de catre acestea a resurselor de hrana necesare.

In afara de toate acestea, care se refera in esenta la dezvoltarea agriculturii “clasice”, pe suprafata uscatului, o mare speranta se leaga de dezvoltarea **productiei si valorificarii unor resurse acvatice** – atat din cadrul oceanului planetar, cat si din apele interioare.

Am numit astfel domeniul de manifestare al **acvaculturii**, ca activitate umana organizata, diferita de simpla recoltare a unor organisme acvatice comestibile, precum pescuitul oceanic, colectarea algelor marine din biocenoze naturale sau altele asemenea.

Practic, **acvacultura** consta in cresterea dirijata a unor organisme acvatice vegetale ori animale, in scopul prelucrarii biomasei obtinute si producerii de hrana umana, ingrediente furajere, sau de materii prime pentru diferite utilitati, precum industria chimica, cea farmaceutica, pentru producerea de energie ori pentru depoluarea unor ape uzate, combaterea deteriorarii calitatii apei in bazine etc.

Prin aceste obiective si functii ale sale, **acvacultura** capata unele trasaturi comune cu **agricultura**, ocupatie straveche a omenirii, ale carei progrese au reprezentat o premiza esentiala pentru evolutia omenirii pana la nivelul actual.

In fapt, la ora actuala, peste 85 % din necesarul de hrana al omenirii este asigurat de catre productia agricola traditionala, in timp ce suprafata ocupata de ape pe planeta este cu mult mai mare in raport cu cea a uscatului (iar resursele oceanice – pesti, crustacee, moluste, alge) ofera mai putin de 15 % din totalul hranei. Pe de alta parte, insasi resursele “naturale” de hrana ale oceanului planetar sunt limitate, iar exploatarea lor este conditionata de limitele autoreproductibilitatii, in conditiile mentinerii echilibrului ecologic necesar.

Ca atare, acvacultura, (cunoscuta si ca “maricultura”, cu referire la mari si oceane) poate oferi **solutii active** de productie a unor resurse majore de interes economic.

De fapt, acvacultura nu este o “inventie” de ultima ora a unei omeniri in cautare de noi resurse; numai termenul este relativ nou. In fapt, anumite ramuri ale acvaculturii functioneaza efectiv de foarte mult timp: avem in vedere **piscicultura**, practicata in Europa de cateva sute de ani, iar in Asia de si mai multa vreme (in prezent, piscicultura insasi s-a diversificat mult, putandu-se vorbi despre ciprinicultura, sturionicultura, salmonicultura etc). La aceasta se adauga cresterea unor scoici (bivalve), activitate ce a cunoscut o dezvoltare importanta de cateva zeci de ani. Tot printre preocuparile de acvacultura se inscrie si **astacicultura** (cresterea racilor), ocupatie practicata in multe tari din Europa de vest inca din secolul 19.

Inercand sa definim **obiectul acvaculturii** prin directiile sale de activitate, se pot face urmatoarele delimitari si precizari:

A/ din punctul de vedere al originii organismelor cultivate deosebim:

- Maricultura (cultivarea dirijata a unor organisme marine/oceanice);
- Acvacultura limnica (cresterea unor organisme provenite din apele interioare ale continentelor.

B/ din punctul de vedere al naturii organismelor cultivate, se pot deosebi:

- **Algocultura** - cresterea diferitelor tipuri de alge;
- Cultivarea macrofitelor acvatice;
- Planctonocultura - cresterea dirijata a unor crustacee, rotifere etc, izolate din comunitatile planctonice naturale;
- Conchiliocultura - cultivarea unor specii de bivalve de interes economic (stridii, midii, scoici producatoare de perle etc);
- Astacicultura - cresterea dirijata a racilor;
- Ranicultura - cresterea broastelor comestibile;
- Piscicultura.

C/ din punct de vedere al specificului tehnologic, cultivarea dirijata a organismelor acvatice se poate clasifica in trei nivele distincte, succesive prin gradul lor de complexitate:

- crestere extensiva;
- cultivare intensiva;
- crestere superintensiva.

Mentionam ca atat nivelul de tehnicitate, cat si implicarea directa a controlului uman, dar si randamentul bioproductiv in cele trei variante de acvacultura cresc semnificativ de la cresterea extensiva la cea superintensiva.



Inainte de a trece la prezentarea principalelor preocupari actuale privind cresterea algelor, sa amintim pe scurt cateva momente care jaloneaza **istoricul cultivarii algelor**.

Studiul algelor in **culturi de laborator** a inceput in urma cu mai bine de 130 de ani, in contextul cercetarilor de fiziologie vegetala.

In anul 1871, cercetatorul Famintzin a fost primul care a investigat capacitatea nutritiva a solutiei nutritive Knop pentru unele specii de protococacee si alge filamentoase verzi. Au urmat cercetarile asupra surselor de nutritie ale algelor efectuate de O.Loew si Th.Bokorny (1887), si studiile asupra capacitatii de a fixa azotul atmosferic (Frank, 1889).

O etapa noua in dezvoltarea cercetarilor de algologie experimentală a fost marcata de obtinerea in premiera a **culturilor monoalgale** de catre Beijerinck (1890).

Artari (1892) s-a folosit de solutia nutritiva Knop – in diverite concentratii – pentru studierea cultivarii in laborator a mai multor specii de protococcale (dintre algele verzi).

Dintre momentele care jaloneaza evolutia etapelor timpurii ale cultivarii dirijate a algelor mai mentionam aprofundarea studiilor privitoare la **fixarea azotului atmosferic** de catre unele alge (Kossowitsch, 1894; Molisch 1895), cele referitoare la **nutritia minerala** a algelor in scopul elaborarii unor retete de medii nutritive cat mai complete (Artari, 1892, 1901; Molisch, 1895; Klebs, 1896; Ono, 1900; Radais, 1900; Matruchot, Molliard, 1900), la dependenta utilizarii de catre alge a unor substante in functie de prezenta sau absenta altora (Benecke, 1898); mai amintim investigatiile privind **ciclul de dezvoltare** si polimorfismul algelor in functie de substantele nutritive utilizate in mediile de crestere (Chodat, Malinesco, 1893; Senn, 1899). Mai mentionam elaborarea si perfectionarea unor metode specifice pentru izolarea algelor, precum metoda pipetelor capilare (Klebs, 1896) sau metoda dilutiilor treptate, alaturi de metodele realizarii unor culturi in conditii sterile, prezentate la primul Congres International de Botanica, de la Paris, din anul 1900 (Chodat, Grintescu, 1900; Radais, 1900).

Inca de pe atunci s-a conturat o concluzie metodologica, formulata in 1902 de botanistul I.Grintescu, conform careia “metoda culturilor pure reprezinta singurul mijloc de a studia in mod precis ciclul de dezvoltare a algelor”, apreciere care este valabila si astazi, dupa 100 ani.

O importanta deosebita pe linia perfectionarii mediilor nutritive a avut si preocuparea pentru echilibrarea raporturilor dintre elementele constitutive cat si cea privind recurgerea la unele surse naturale de nutrienti, precum extractele de sol si cele de turba (Benecke, 1908; Strom, 1933; Pringsheim, 1936; citati de Peterfi, 1976)

Alte momente importante in evolutia domeniului sunt reprezentate de studiile monografice realizate asupra genului *Scenedesmus* realizate de catre G.M.Smith (1916) si de catre R.Chodat (1926).

In perioada care a precedat si a succedat cel de al doilea razboi mondial studiul algelor in culturi a cunoscut o dezvoltare si o diversificare lenta; mentionam, sub raport terminologic, introducerea denumirii de “**culturi axenice**” pentru “culturile pure” (McLaughlin, 1960). In fapt, termenul de culturi axenice (*a* – privativ; *xenos* – strain), desemneaza culturi in care nu exista organisme straine; termenul, mai vechi, de “cultura pura” este ceva mai imprecis, fiind frecvent utilizat cu referire la culturi monospecifice de alge, care pot contine populatii bacteriene.

Dintre directiile de dezvoltare a algologiei experimentale, legate direct de cultivarea algelor in laborator, amintim :

- efectele substantelor stimulative de crestere asupra algelor;
- polimorfismul unor specii de alge;
- efectele unor substante inhibitoare, ale algicidelor;
- efectele genetice ale unor factori mutageni (fizici si chimici);
- acumularea unor pesticide;
- acumularea si efectele unor metale grele;
- acumularea si efectele radioizotopilor;
- metode de realizare si mentinere a colectiilor de culturi de alge;
- eliberarea de produse extracelulare in diferite conditii de cultivare;
- producerea de substante cu proprietati antibiotice de catre alge.

În ceea ce privește **preocupările unor specialiști români** pentru dezvoltarea culturilor algale, menționăm în primul rând studiile – devenite clasice – ale lui I.Grintescu (care s-a ocupat de culturile pure de alge pe diferite medii nutritive), cercetările lui Em.Teodorescu (dintre care amintim pe cele referitoare la influența luminii de diferite culori asupra creșterii algelor în culturi).

O mențiune cu totul specială trebuie făcută asupra activității deosebit de laborioase, desfășurate de peste 70 de ani de specialiști în algologie/fiziologie vegetală de la Universitatea din Cluj, activitate care, prin tematica abordată, prin realizările obținute și prin specificul lucrărilor permite să se vorbească de existența unei adevărate **scoli clujene de algologie** experimentală.

Dintre realizările și succesele deosebite ale acestei școli, care de altfel se bucură de o largă recunoaștere internațională, amintim numai câteva:

- Contribuții la morfologia și fiziologia algei verzi *Microthamnion kützingerianum* Năg. (teza de Doctorat a Prof. Ștefan Péterfi, 1937);
- Cercetări privind productivitatea diferitelor specii de *Scenedesmus* în culturi pure;
- Cercetări privind nutriția minerală a algelor, influența sărurilor complexe, a compușilor chelatinanți;
- Studii privind influența condițiilor de iluminare asupra productivității culturilor;
- Posibilitatea utilizării unor ape uzate de diferite tipuri în compoziția mediilor de creștere;
- Efectele introducerii în mediile nutritive a unor ape minerale;
- Cercetări privitoare la cultivarea intensivă a unor alge verzi (teza de Doctorat a Cercet. științific principal Francisc Nagy-Tóth – 1972);
- Influența unor elemente rare (ex. – din familia Lantanidelor) asupra creșterii algelor în condiții de laborator, rezultate care au fost incluse în teza de Doctorat a Cercet. științific principal Adriana Barna (1978);
- Izolarea din biocenoză naturale variate și trecerea în condiții de cultură a numeroase specii și linii de alge; realizarea și menținerea unei bogate colecții de culturi de alge;
- Influența condițiilor de cultivare asupra compoziției în hidrocarburi a diferitelor tulpini ale speciei *Botryococcus braunii* (teza de Doctorat a Cercet.științific principal Ana Nicoara);
- Cunoașterea condițiilor de cultivare și a productivității, în laborator și la scară pilot a algei *Spirulina platensis*, studii finalizate, printre altele, și cu o lucrare de doctorat elaborată (2000) de Prof. univ. Nicolae Dragos.

Nu putem încheia această foarte succintă trecere în revistă a preocupărilor românești referitoare la cultivarea algelor, fără a aminti, macar, studiile întreprinse în alte două centre, respectiv Universitatea București și Institutul Român de Cercetări Marine de la Constanța.

În anii '60 și '70 ai secolului XX, la universitatea București s-au efectuat studii aprofundate asupra fiziologiei microalgelor, în deosebi privind nutriția minerală, fotosinteza,

influenta unor microelemente, dar si productivitatea culturilor, elaborarea unor dispozitive de cultivare etc. Dintre specialistii care au lucrat aici, amintim pe Prof. N.Salageanu, Prof. O.Boldor, Viorica Salageanu, L.Tipa, Al.Ionescu, V.Neacsu, Gh.Popovici etc.

La Constanta, in cadrul preocuparilor de cunoastere si diversificare a utilizarii resurselor marine, au fost realizate cercetari sustinute privind izolarea unor specii de perspectiva din mediul marin, cerintele ecofiziologice ale unor alge, comportarea acestora in conditii de cultura, influenta compozitiei mediului nutritiv si a conditiilor de cultivare asupra cresterii algelor etc. Amintim in deosebi lucrarile Cercet.stiintific principal **Pia Elena Mihnea.**

1. Preocupări si realizări în cunoasterea, cresterea dirijată si valorificarea algelor

Vom incepe cu un foarte scurt **istoric** al cunoasterii si preocuparilor pentru obtinerea si valorificarea algelor.

In anul 1521, in perioada de inceput a conchistei spaniole in zona ocupata astazi de Statele Unite ale Mexicului, Bernal Diaz del Castillo a semnalat vanzarea pe pietele locale, a unor “biscuiti” numiti *tecuitlatl*, realizati dintr-o biomasa vegetala recoltata din apele foarte alcalina ale lacului Texcoco, situat in apropierea capitalei actuale a Mexicului. Francisco Hernandez, medic si naturalist, care insotea pe conchistadori, a descris modul in care filamentele de *Spirulina* erau recuperate din apele lacului, apoi uscate, pentru a se obtine biscuitii “de culoare albastra sau verde”. Lacul exista si astazi, iar el asigura in prezent principala sursa de biomasa de *Spirulina platensis* comercializata pe plan mondial.

In 1964, un botanist belgian, J.Léonard, care participa la o expeditie transsahariana, a remarcat in mai multe piete din satele regiunii Kanem, din statul Ciad, niste turte “de culoare albastra-verde” – numite in limbajul local “*dihé*”, provenind din baltile apelor alcaline care inconjurau lacul Ciad, produs consumat curent de catre locuitorii zonei. Examenul microscopic a dovedit ca aceste “turte” erau constituite din biomasa uscata (in mod natural, la soare, la malurile baltilor amintite) a unei singure specii de alge – *Spirulina platensis*, populatie dominanta in apele alcaline, puternic salinizate, ale baltilor. Analizele chimice efectuate la intoarcerea expeditiei in Belgia au evidentiat un continut foarte ridicat de proteine – cca 65-70 % din greutatea materiei uscate.

Iata deci cum doua populatii autohtone, separate de o distanta de peste 10000 km si de Oceanul Atlantic, au descoperit, independent, calitatile nutritive ale acestor alge. Apele lacului Texcoco, ca si acelea ale baltilor din jurul lacului Ciad, sunt foarte alcaline (pH-ul fiind aproximativ de 11), spirulinele prolifereaza la acest pH care este prohibitiv pentru alte specii fitoplanctonice, realizand astfel o adevarata monocultura. Prezenta vacuolelor gazoase in celule si forma spiralata a filamentelor permit acestora din urma sa pluteasca si sa formeze ingramadiri/acumulari, pe care vantul le poarta si le depun pe malurile lacurilor. Uscarea se face rapid, la soare.

La mijlocul anilor '60, abordarea si realizarea unui program complex de cercetare in cadrul Institutului Francez al Petrolului, coordonat de cercetatoarea Geneviève Clément, a dus la elaborarea unor tehnologii de cultura intensiva a algelor din genul *Spirulina*, constand in instalatii, medii nutritive si procedee de crestere de mare randament, care stau la baza activitatilor ulterioare de cultivare a acestor alge din toata lumea, inclusiv de la noi din tara.

Printre momentele importante care jaloneaza evolutia preocuparilor pentru optimizarea cresterii dirijate a algelor din genul *Spirulina*, trebuie amintit si studiul realizat de Claude Zarrouk si prezentat, in 1966, ca teza de doctorat la Universitatea din Paris, studiu fundamental referitor la influenta unor factori fizici si chimici asupra cresterii si fotosintezei la *Spirulina maxima*.

In prezent, pentru obtinerea unor noi surse de materii prime de interes economic major, acvacultura unor specii vegetale, in primul rand a algelor, se bucura de o atentie deosebita.

Pe linia obtinerii de materii nutritive de interes alimentar si/sau farmaceutic de provenienta alga, in lume deja functioneaza o serie de unitati de productie.

Mentionam ca, dupa cercetarile efectuate in 1967 in colaborare cu Institutul Francez al Petrolului, intreprinderea mexicana Sosa Texcoco recolta biomasa de *Spirulina* de pe o suprafata de 900 hectare, pe care biomasa spirulinelor se dubla prin diviziune naturala in 3-4 zile. O data filtrata, suspensia de spiruline era uscata cu aer cald si transformata intr-o pudra fina. Prima uzina-pilot, care producea 150 tone de faina de *Spirulina* pe an, a inceput sa functioneze in 1973. Dupa o investitie de cca 5 milioane \$ in 1977, productia estimata pentru anul 1982 era de 1000 tone, in valoare de cca 15 milioane \$. Principalii importatori de *Spirulina* erau SUA, Japonia, tarile vest-europene; domeniul prioritar pentru utilizarea acestui produs este reprezentat de alimentatia dietetica si de farmaceutica naturista.

Ulterior, producerea industrială a biomasei de *Spirulina* a devenit o preocupare efectiva si in alte state, precum Israel (unde s-au amenajat initial 12000 metri patrati de mlastini langa Haifa pe care productia previzibila era de 50 tone masa uscata pe an), Japonia, Tailanda, Franta, Uzbekistan, Republica Moldova etc.

La noi in tara a fost lansat - in anii '80 - un program national de cercetare pentru producerea si valorificarea biomasei de *Spirulina*, folosindu-se material biologic importat din Egipt. Au participat mai multe institutii, precum Facultatea de Biologie a Universitatii Bucuresti, Institutul de Biologie Bucuresti, Institutul de Chimie Alimentara din Bucuresti, Centrul de Cercetari Biologice Cluj-Napoca, Statiunea de Cercetari "Stejarul" - Neamt.

Primele cantitati importante de biomasa (de ordinul zecilor de kilograme, fata de sutele de grame obtinute in alte laboratoare) au fost obtinute in instalatia pilot de 120 m² construita la Pangarati, in judetul Neamt. Ulterior a mai fost realizata o mica statie pilot la Cluj, cu o suprafata de productie de ordinul a 20 m², si apoi o instalatie mai mare, tip sera, la Institutul de Biologie din Bucuresti. Aceasta din urma functioneaza si in prezent, in cadrul Institutului de Ecologie Aplicata, productia sa fiind folosita la realizarea unor preparate medicamentoase sau cosmetice.

Trebuie sa mai amintim ca un numar de firme cu profil farmaceutic din Romania produc anumite medicamente/suplimente alimentare pe baza de *Spirulina*, materia prima fiind importata din Republica Moldova. In magazinele de profil de la noi se comercializeaza si preparate cu *Spirulina* realizate in Cehoslovacia, Germania, Statele Unite etc.

2. Bazele ecofiziologice si biotehnologice ale cultivării dirijate a organismelor acvatice vegetale

2.1 Nutritia algelor

Unul dintre procesele fiziologice esențiale în derularea metabolismului organismului vegetal și, în final, în producerea de biomasă, îl reprezintă **nutritia minerală**.

Pe baza unor cercetări minucioase, aprofundate și complexe, care s-au desfășurat de-a lungul unei perioade de peste 100 de ani, specialiștii în fiziologie vegetală au ajuns la o cunoaștere destul de temeinică a caracteristicilor nutriției minerale a algelor, a principalelor cerințe ale algelor, atât în raport cu nutrienții principali, cât și cu micronutrienții. Aceste cunoștințe au stat la baza elaborării unor rețete de medii nutritive pentru alge, medii care și-au dovedit caracterul adecvat în urma a numeroase studii de algologie experimentală.

În nutriția algelor un rol important revine nutrienților esențiali.

Printre aceștia se numără sursele de carbon, de azot mineral și cele de fosfor.

Ca surse de **carbon**, majoritatea algelor (autotrofe) folosesc dioxidul de carbon dizolvat în apă, respectiv ionul carbonic și cel bicarbonic.

În mediile de creștere, care, în fond constituie soluții apoase, dioxidul de carbon este prezent în diferite forme, funcție de pH, de cantitatea de elemente alcaline, de temperatură și de cantitatea de CO₂ din atmosferă, situație ilustrată de reacțiile de mai jos:



Sub valori ale pH-ului mediului numai CO₂ liber prezintă importanță, între valorile de 7 – 9 bicarbonații sunt cei mai importanți ca sursă de carbon pentru autotrofe, iar la valori ale pH-ului de peste 9,5 bicarbonații devin preponderenți în nutriția minerală a algelor.

Au fost puse în evidență particularități metabolice care diferențiază variatele specii de alge. *Scenedesmus quadricauda* utilizează atât CO₂ cât și ionul bicarbonic, pe când *Chlorella* folosește preponderent CO₂; *Spirulina platensis* realizează creșteri importante ale biomasei în medii foarte bogate în ion bicarbonic, dar, la barbotarea suspensiilor cu aer îmbogățit în CO₂ se înregistrează un spor semnificativ al producției.

Unele alge, printre care *Euglena gracilis*, *Ochromonas malhamensis*, sau anumite cianoficee pot converti monoxidul de carbon în dioxid de carbon. În cazul algelor care prezintă și capacități de nutriție heterotrofă, apreciate drept chemo-organotrofe facultative (de exemplu cele din genul *Euglena*) heterotrofia este susținută de substraturi precum etanolul și acetatul, iar în medii acide, de acizii dicarboxilici din ciclul lui Krebs și de către aminoacizii corespunzători. Unele linii genetice de *Scenedesmus* și *Chlorella* au folosit compusi organici purtători de energie, precum hexozele (zaharuri), acid acetic/săruri, peptona etc. *Nostoc punctiforme* poate asimila polizaharide precum amidonul sau inulina. Întrucât moleculele mari nu pot pătrunde în majoritatea celulelor algale, pentru a fi metabolizate este necesar ca algele respective să producă enzime extracelulare; unele alge secretă o proteină extracelulară care poate lichefia gelatina, de exemplu.

În ceea ce privește asigurarea necesarului de **azot**, unele alge – din cadrul cianoficeelor (respectiv familiile *Nostocaceae*, *Oscillatoriaceae*, *Rivulariaceae*) – pot realiza fixarea directă a azotului molecular (atmosferic), proprietate care a dus la utilizarea unor culturi de alge pentru sporirea producției de orez în zonele tradiționale de cultură a acestor cereale.

Reamintim în acest sens că, prin introducerea în apă ce acoperă terenurile cultivate cu orez a unei suspensii concentrate a algei hormogonale *Tolypothrix*

tenuis s-a obtinut o mărire a producției de orez de ordinul a 28 %, ca urmare a unui aport sporit de azot în agroecosistemul respectiv

Fixarea nitrogenului molecular de către cianoficeele fototrofe depinde, printre altele, de prezența în mediu a unor cantități mici dar adecvate de molibden; acest element este necesar și în cazul ca sursa de azot este constituită de azotați.

Între asimilarea azotului și fotosinteza există o conexiune indirectă prin intermediul donatorilor de hidrogen.

Cantitățile generale de azot de care au nevoie în condiții de cultivare cloroficeele au fost apreciate la nivele cuprinse între 6,5 - 8,3 % din greutatea uscată a materiei organice (fără cenusa). S-a mai constatat că absorbția excesivă de azot poate fi determinată experimental, dacă algele sunt crescute în medii deficitare în mangan, bor sau zinc; pe această cale au fost obținute celule de *Scenedesmus obliquus* care conțineau cantități de azot duble față de cele normale.

Este posibil ca această proprietate a metabolismului microalgelor să poată fi utilizată în scopul producerii prin cultivare dirijată a unei biomase cu conținut mult sporit de proteină, fără cheltuieli suplimentare

Se considera că, de regulă, majoritatea algelor dulcicole folosesc în metabolismul lor, drept sursă “preferabilă” de azot – **azotații**, în măsura mult mai mare decât azotitii sau amoniul. În cazul folosirii unor medii nutritive ce conțin NH_4NO_3 , culturile de *Euglena*, *Trachelomonas* și *Phacus*, microalge care nu pot utiliza azotații, ionul de amoniu este asimilat preferențial, iar pH-ul mediului scade puternic.

Sunt și unele substanțe organice cu azot care servesc drept surse convenabile pentru metabolismul azotat al unor alge; dintre acestea, menționăm urea, acidul uric, xantina. Un studiu asupra ciclului ureei la *Chlorella* a pus în evidență asimilarea citrulinei, a ornitinei și a alfa-butiratului în locul ureei și a argininei; nici o alga nu a folosit, ca sursă de azot, alantoina sau creatinina (Hutner & Provasoli, 1964).

În ceea ce privește asimilarea **fosforului**, s-a constatat că aceasta are un rol extrem de important în producția de biomasă a microalgelor. Fosforul reprezintă o componentă importantă a acizilor nucleici, a lipidelor, proteinelor, și intermediază metabolismul carbohidraților.

Cea mai accesibilă/asimilabilă formă a fosforului o reprezintă fosfații. Odată asimilat, fosforul va contribui efectiv la formarea unor compusi organici a căror legătură chimică cu atomii de P este labilă, și este capabilă de a elibera energie. Asociat cu adenina și cu riboza, acidul fosforic contribuie la formarea adenzin-trifosfatului (ATP), a adenzin-difosfatului (ADP) și a adenzin monofosfatului (AP), componente esențiale ale metabolismului energetic al algelor.

Necesitățile față de fosfor ale cloroficeelor, deși destul de variate, variază în general în jurul a 2 – 3 % din greutatea uscată a biomasei.

Deficitul de fosfor în mediul nutritiv duce la acumularea unor mari cantități de lipide în biomasă respectivă.

Siliciul este un element absolut indispensabil diatomeelor și unor specii de crisoficee sau xantoficee. Prezența acestui element intervine direct în derularea proceselor de diviziune celulară. Cerințele ecofiziologice față de acest element sunt destul de diferite de la o specie la alta; pentru *Asterionella formosa* se citează nivelul de 0,5 mg/l, pentru *Melosira italica* subsp. *subarctica* - 0,8 mg/l, iar pentru creșterea normală a speciei *Fragilaria crotonensis* este necesară o concentrație a siliciului de cel puțin 25 mg/l.

Fierul intra in componenta citocromilor si a feredoxinei, elemente ale lanturilor transportului de electroni in fotosinteza, respiratie, fixarea azotului atmosferic; el intervine de asemenea intr-o varietate de reactii enzimatice.

Magneziul are multe atributii de importanta majora in metabolismul celular. Rolul sau principal consta in procesul de agregare a ribozomilor in structuri functionale; Mg este implicat in deplasarea grupelor fosfatice de mare inalt ergice si, de asemenea, este un component important in structura clorofilei.

Manganul intervine in cadrul mecanismelor de transport a electronilor in fotosinteza; in afara de aceasta, el este implicat, la concentratii foarte reduse, in cresterea heterotrofica la *Chlorella pyrenoidosa*. Manganul actioneaza, de asemenea, in calitate de cofactor pentru cateva enzime.

Cuprul intra in alcatuirea proteinei din structura plastocianinei, care este un component al caii de transport a electronilor intre cele doua fotosisteme. In afara de aceasta, cuprul intra in componenta unor enzime ale plantelor superioare.

Potasiul actioneaza in calitate de cofactor pentru o mare varietate de enzime, si este necesar tuturor algelor. Amintim ca, in cadrul unei analize asupra compozitiei chimice globale a algelor (Healey, 1973) s-a constatat ca - intre cele 18 elemente chimice evidentiuate, potasiul ocupa locul al 6-lea (in ordine descrescatoare, dupa H, C, O, N, Si), cu o concentratie medie de ordinul a 17,3 micrograme/mg substanta uscata.

Sodiul este necesar multor specii de alge, dar nu tuturor. O parte dintre cianoficee asimileaza si folosesc in metabolismul lor sodiul. Una dintre speciile care necesita cantitati relativ mari de sodiu este *Spirulina platensis*; necesarul de Na al speciei *Anabaena cylindrica* nu poate fi satisfacut de K, Li, Rb sau Cs. Prezenta sodiului in mediul nutritiv stimuleaza cresterea autotrofa, nu pe cea heterotrofa, la *Chlorella pyrenoidosa*. Necesitatile fata de sodiu ale cianoficeelor marine depasesc cu mult pe cele ale speciilor de apa dulce.

In cadrul analizei compozitiei elementale a algelor, mentionate anterior (Healey, 1973), sodiul ocupa locul al 8-lea in ordinea descrescanda, avand o concentratie medie de ordinul a 6,1 micrograme/mg de substanta uscata.

Rezultate foarte interesante pentru cunoasterea particularitatilor nutritiei minerale a algelor au fost obtinute prin urmarirea **efectelor deficitului controlat** al unei substante sau a alteia in mediul nutritiv. Un efect general este reflectarea deficitului elementului respectiv in concentratia sa in biomasa. De asemenea, deficitul unui nutrient este acompaniat de modificari in cantitatile altor elemente din continutul biomasei. Astfel, la *Chlorella pyrenoidosa* deficitul de fosfor duce la valori mai mici ale cantitatii de potasiu; la *Anacystis nidulans* deficitul de fosfor induce scaderea continutului de azot din biomasa.

Chlorella pyrenoidosa crescuta intr-un mediu nutritiv cu cantitati sub-optimale de potasiu acumuleaza cantitati mai mari de sodiu.

Un prim efect general al deficitului de nutrienti in mediul de crestere al algelor consta in scaderea continutului de pigmenti fotosintetici. Cantitati diminuate de clorofila au fost raportate la un numar mare de specii de alge crescute in medii nutritive deficitare in N, P, S, Si, Mg, Fe, K si Mo. In mod similar, la cianoficee si algele rosii, cantitatile de biliproteine fotosintetice active depind in mare masura de insuficienta unor nutrienti in mediul de crestere. O anumita exceptie o prezinta manganul, a carui deficit nu determina scaderea cantitatii de clorofila la algele verzi sau la *Euglena gracilis* crescute autotrof.

Un al doilea efect general al carentei unor nutrienți la alge constă în acumularea unor compusi de stocare a carbonului.

De obicei, acești compusi sunt reprezentați de hidrații de carbon, acumularea cărora a fost stabilită în cazul deficitului de N, P, S, Mg și Fe. Deficitul de potasiu a dus la acumularea de hidrați de carbon la *Chlorella vulgaris*, dar acest efect nu a fost pus în evidență în cadrul culturilor experimentale de *Cyclotella cryptica*; la această specie, nici carenta calciului sau manganului nu a determinat acumularea peste normal a hidraților de carbon.

Deficitul de azot din mediul nutritiv a determinat acumularea de lipide la mai multe specii de alge, dar nu și la cianoficee ori rodoficee.

Cel de al treilea efect general al insuficienței unor nutrienți este scăderea conținutului de proteine. Acest efect a fost constatat în cazul carentei N, P, Si, Mg, Zn. În mod surprinzător, biomasa de *Astasia longa* într-un mediu limitat în sulf nu a prezentat o diminuare a proteinelor. Insuficiența în N, P, S, Mg și Zn duce la întreruperea sintezei ARN și la o scădere semnificativă a cantității de ARN în celule.

În afara de impactul deficitului unor nutrienți asupra compoziției biomasei algale, au fost puse în evidență și unele influențe asupra metabolismului algal. Dintre acestea, amintim următoarele:

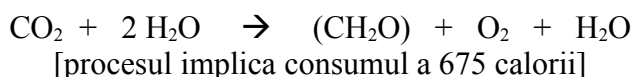
- Creșterea capacității celulelor de a absorbi din mediu elementul deficitar;
- Sporirea în fapt a cantităților de nutrienți efectiv asimilate;
- Creșterea, în cazul unor anumite carente, a abilității algelor de a asimila nutrienții deficitar din compusi organici;
- Scăderea generală a ratei fotosintezei.

2.2 Fotosinteza

După cum se cunoaște deja, fotosinteza (inclusiv la alge, evident), parcurge trei faze esențiale, și anume:

- Absorbția energiei luminoase de către pigmentii fotosintetici localizați în cromatofori;
- Transferarea acestei energii, în parte către ATP/pirofosfat, în procesul de “fosforilare fotosintetică”, și în parte spre procesul de oxidare/reducere, în care se reduce trifosfopiridin-nucleotida și se eliberează oxigen;
- Asimilarea carbonului într-o serie de reacții ce au loc la întuneric, implicând riboză-5-fosfat, ribuloză-difosfat și utilizând energia de reducere a trifosfopiridin-nucleotidei și acțiunea de fosforilare a ATP.

Însumând reacțiile chimice de bază ale fotosintezei rezultă cunoscuta ecuație:



Dintre factorii care afectează procesul de fotosinteza, pe primul loc se situează, evident, **lumina**.

Interesează, în raport cu acest factor:

- Intensitatea luminii;
- Regimul de iluminare;
- Compozitia spectrala a luminii.

Intensitatea luminii , in cazul cresterii dirijate a algelor, reprezinta un factor de mediu extrem de important, nu numai prin semnificatia sa, in sine, de element determinant al fotosintezei, ci si prin faptul ca, pe parcursul derularii procesului de crestere a algelor, odata cu marirea densitatii suspensiei in mediul nutritiv, apare un efect de “auto-umbrire” in cadrul populatiei algale, ceea ce reprezinta in fapt scaderea intensitatii radiatiei luminoase la nivelul culturii in ansamblul sau.

Pentru a se evita efectele negative ale acestei situatii asupra productivitatii culturilor, au fost testate trei tipuri de solutii tehnologice:

- introducerea unor sisteme eficiente de agitare continua a suspensiei, astfel ca, virtual, toate celulele sa primeasca cantitatea de lumina necesara pentru realizarea fotosintezei;
- cresterea treptata a intensitatii luminii, direct proportional cu cresterea populationala, respectiv marirea “densitatii optice” a suspensiei algale;
- indepartarea (recoltarea) periodica a unei parti din cantitatea de alge din cultura, pentru a mentine densitatea optica a suspensiei in limite convenabile pentru derularea normala a fotosintezei.

Prima metoda este actualmente larg folosita, atat in culturile intensive de laborator, cat si in cele de tip industrial, la scara mare.

In esenta, sunt doua procedee mai raspandite, si anume:

- barbotarea cu un aer sau un amestec gazos;
- agitarea/omogenizarea suspensiei prin folosirea unor dispozitive mecanice.

Barbotarea implica introducerea in mediul de crestere a unor cantitati de aer sau de aer imbogatit cu CO₂ in suspensie; in cazul culturilor de laborator, omogenizarea suspensiei se realizeaza ca urmare a turbulentei continue a suspensiei produse de bulele de aer care se ridica la suprafata mediului. In cazul unor instalatii industriale de crestere a algelor, se foloseste fie acelasi efect, fie procedeul de injectare sub presiune ridicata, a unor jeturi de aer in masa suspensiei algale, ceea ce determina o turbulenta in mediul de crestere si asigura o buna fotosinteza.

Pentru agitarea mecanica a suspensiei algale in mediul nutritiv se folosesc, in conditii de laborator, agitatoare magnetice sau de alte tipuri, iar in cazul culturilor la scara industrială - dispozitive de agitare cu zbaturi, actionate de motoare electrice, care asigura o buna agitare a suspensiei.

Cea de a doua metoda a fost experimentata, printre altii, si de cercetatorul Francisc Nagy-Tóth, de la Universitatea “Babes-Bolyai” din Cluj-Napoca (1972).

Folosind culturi paralele de *Scenedesmus acutiformis* si de *Scenedesmus acutus*, crescute pe un mediu nutritiv Tamyia, modificat de autor, s-a procedat la compararea cresterii culturilor in conditiile mentinerii intensitatii luminii la nivelul de 5000 + 5000 luxi (iluminare bilaterala a vaselor de cultivare), cu cresterea realizata in variantele la care intensitatea luminii a fost sporita la fiecare 2 zile cu cate 500, 1000, 2000 sau 5000 luxi.

În esență, s-a constatat că sporirea intensității luminii, peste valoarea inițială de 5000 luxi a determinat o creștere mai viguroasă a culturilor. În anumite variante, sporul de substanță uscată (în raport cu martorul) a fost de 33 %; importantă este și apariția unor modificări în compoziția biochimică a biomasei, constând în creșterea cantității de proteine și a celei de glucide.

S-a mai constatat că scăderea intensității luminii la nivele de 1500 + 1500 luxi determină o reducere substanțială a creșterii culturilor de *Scenedesmus*, această intensitate situându-se sub limita optimă pentru alga respectivă.

În anumite condiții, unii autori au experimentat creșterea algelor la intensități ale luminii care au depășit 10000 – 15000 luxi.

În fine, cea de a treia cale de eliminare a efectelor negative ale “autoumbririi” cauzate de creșterea densității optice a suspensiei algale vizează îndepărtarea cauzei scăderii intensității luminii, prin **prelevarea periodică a unei părți din biomasa algala** din cultură. Se recoltează deci numai o parte din biomasa algala, astfel ca algele rămase în mediul nutritiv vor beneficia de un regim de intensitate a luminii mai bun, putând deci continua procesul de producere a biomasei cu un randament superior.

Regimul de iluminare, la rândul său, influențează mersul și intensitatea fotosintezei.

Alternanța nictemerală a diviziunii celulare este de mult cunoscută la plante (ca și la animale, de altfel). Prin cercetări de laborator s-a dovedit că perioada de întuneric pe parcursul unei zile este nu numai favorabilă, ci și necesară pentru succesiunea normală a ciclurilor vitale.

Experimental asigurat, raportul adecvat între perioadele de lumină și cele de întuneric poate determina coordonarea ritmică a proceselor vitale la o populație de celule într-o măsură mult mai mare decât în condiții naturale de creștere, ajungându-se astfel la **sincronizarea culturii**.

Pentru cercetările fiziologice de laborator, utilizarea unor culturi sincronizate prezintă multe avantaje și o importanță deosebită. Nivelul de sincronizare a culturilor se poate evalua (la cloroficee) prin determinarea numărului celular și de celule-mame de autospori, determinarea variabilității la un moment dat a dimensiunilor celulare, a densității optice a culturilor etc. Din cercetările efectuate de mai mulți specialiști a rezultat că sincronizarea unei culturi poate persista destul de mult timp, respectiv pe durata a 5 – 6 cicluri succesive de cultivare, după care, fără intervenții exterioare, cultura se desincronizează.

Alternanța perioadei lumină/întuneric pe parcursul unei zile poate fi reglată, evident, numai în cazul cercetărilor experimentale de laborator asupra cultivării algelor sau, eventual, în instalațiile industriale de cultivare care folosesc lumină artificială.

Testele de laborator au luat în calcul perioade de

12 ore lumină : 12 ore întuneric,

14 ore lumină : 10 ore întuneric,

16 ore lumină : 8 ore întuneric.

Pot fi, desigur, experimentate și alte tipuri/varianțe de alternanță.

În cercetările de laborator efectuate la Cluj-Napoca (Nagy-Tóth, 1972), s-a constatat că producția de biomasă a fost mai mare în cazul regimului de iluminare de 16 ore lumină : 8 ore întuneric (în cadrul culturilor sincronizate); în culturile nesincronizate, productivitatea maximă s-a obținut în varianta de 14 ore lumină : 10 ore întuneric.

Compoziția spectrală a luminii este, de asemenea, un factor important în derularea fotosintezei.

În condițiile cultivării industriale a algelor – și anume, în varianta de creștere în bazine sub cerul liber – acest factor ecologic nu se poate regla în mod eficient; singura posibilitate tehnică ar reprezenta-o eventuală acoperire a bazinelor cu o folie transparentă care să permită trecerea spre culturi numai a radiațiilor de o anumită culoare. Este însă discutabilă eficiența economică a aplicării unui astfel de procedeu.

Pentru cultivarea algelor în instalații industriale la care lumina se asigură din surse artificiale, se pot găsi mijloace tehnice de reglare a lungimii de undă optime.

Oricum, investigațiile efectuate în decursul timpului (reamintim prioritatea cercetărilor de profil, efectuate la începutul secolului XX, de către fito-fiziologul român Em. C. Teodorescu) au arătat că, în general, radiațiile din domeniul luminii roșii (în jurul lungimii de undă de 600 nm) prezintă eficiența fotosintetică cea mai ridicată.

Prin realizarea unei succesiuni (alternante) a luminii albastre (400 – 475 nm, 1400 luxi) ▪ lumina roșie (600 nm, 1700 luxi) ▪ lumina galbenă (550 nm, 3100 luxi) ▪ lumina albă (4000 luxi) s-a obținut, în condiții de laborator o anumită scădere a biomasei fotosintetizate, odată cu o creștere semnificativă (până la 42 %) a conținutului de proteină în biomasa algală (Nagy-Tóth, 1972).

2.3 Productia de biomasa

Produsele de biomasa obținute în cadrul cercetărilor experimentale de laborator sunt în general foarte variate, ele depinzând în principal de:

- Speciile de alge puse în cultură;
- Mediile nutritive utilizate;
- Regimul termic și cel de iluminare;
- Sistemul tehnic de cultivare.

De altfel, rezultatele obținute în condiții de laborator nu sunt importante în sine, și nici prin compararea productivităților obținute de un laborator sau de altul; ele sunt importante atât prin dezvoltarea cunoașterii în domeniul fiziologiei (ecofiziologiei) vegetale, cât și prin aceea că pot oferi informații asupra productivității diferitelor specii, obținute în anumite condiții de creștere, informații care se pot utiliza în elaborarea unor sisteme tehnologice avansate de creștere a algelor în scopuri economice.

Dintre rezultatele obținute pe linia producerii de biomasa algală în instalații pre-pilot, pilot, sau chiar industriale, menționăm câteva.

În cadrul unor cercetări efectuate la Institutul de Biologie al Academiei Ungare de la Tihany (Felföldy, 1964) într-o stație pilot relativ mică (10 m²), prin cultivarea algei *Scenedesmus obtusiusculus* în condiții intensive s-au obținut productivități de ordinul a 21,5 g subst. uscata/m²/zi, de-a lungul sezonului de vegetație cuprins între 1 aprilie și 31 octombrie. Prin extrapolarea datelor obținute la scară mică s-a ajuns la o productivitate teoretică de ordinul a 46 tone/hectar. Menționăm că recoltarea biomasei algale s-a făcut foarte frecvent, respectiv la fiecare 5 zile, algele fiind separate din mediul nutritiv cu ajutorul unei centrifuge.

O stație-pilot permanentă pentru creșterea dirijată a algelor a fost realizată la Universitatea Berkeley din California (SUA), încă din anii '60. Aceasta avea un volum "activ"

de 1 milion litri mediu nutritiv, si asigura o productivitate de cca 100 livre (1 livra = 453,6 g) masa proaspata/zi (cca 45 kg).

In cadrul unui alt program de cercetare, desfasurat tot in California, la universitatea La Jolla/SanDiego, s-au obtinut productii de biomasa (grame/m²/zi) destul de variate, dupa cum urmeaza:

Alga	Sursa de N = NO ₃	Sursa de N = uree
Nitzschia	12,4	8,8
Ankistrodesmus falcatus	11,5	17,4
Nannochloris	23,2	-
Oocystis pusilla	40,6	45,8
Chlorella Z-1	13,2	3,52
Chlorella PB-1	13,9	9,4
Chlorella 96-1	12,0	13,9
Oocystis parva	21,7	-
Selenastrum	16,4	15,2

Un program cuprinzator de cercetari a fost efectuat in Asia Centrala (zona Taskent), intr-o regiune in care intensitatea medie a luminii (perioada de lumina a zilei, respectiv intre 6.30 si 18.30 h) varia in perioada aprilie – mai intre 36 – 47 mii luxi, intre iunie – septembrie 43 – 49 mii luxi, iar in octombrie – noiembrie – 20 - 26 mii luxi, temperatura aerului (ca valori medii lunare) fiind cuprinsa intre 18,6⁰C in aprilie, 29,5⁰C in iulie si 15,8⁰C in luna octombrie.

In bazine speciale pentru culturi in masa, sub cerul liber, au fost crescute *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorella vulgaris* si *Scenedesmus obliquus*. In lunile calde, productiile medii zilnice de biomasa au atins 19 – 32 grame subst. uscata/m² (Muzafarov, Taubaev, 1974). In aceeasi regiune, in cadrul unor culturi industriale destinate producerii de biomasa algala ca supliment furajer, de-a lungul unei perioade de crestere insumand 328 zile, de pe bazine insumand 251 m² s-a recoltat o cantitate de biomasa de 984 kg (substanta uscata).

In cadrul cercetarilor de cultivare a microalgelor desfasurate la Laboratorul de Algologie experimentală al Institutului de microbiologie al Academiei din Cehia (de la Trebon) s-a efectuat un program de crestere in bazine sub cerul liber a unor linii de *Scenedesmus obliquus* si *Chlorella ellipsoidea*, *Chlorella pyrenoidosa*.

Valoarea medie a productivitatii culturilor – pentru perioade de 77 – 115 zile – a variat intre 11,9 - 14,8 g subst.uscata/m²/zi.

Intr-o alta serie de experiente, realizate tot acolo, s-au obtinut - in cazul cultivarii speciei *Scenedesmus obliquus* – o medie a productivitatii de 16,05 g subst.uscata/m²/zi pentru o durata generala a culturii de 117 zile; in aceleasi conditii de crestere, *Scenedesmus acutus* a realizat o productivitate medie de 15,44 g subst.uscata/m²/zi.

Intr-o lucrare de sinteza, Soeder (1980) prezinta cateva date referitoare la productivitatea unor culturi algale realizate in bazine exterioare in diferite tari; iata-le, pe scurt:

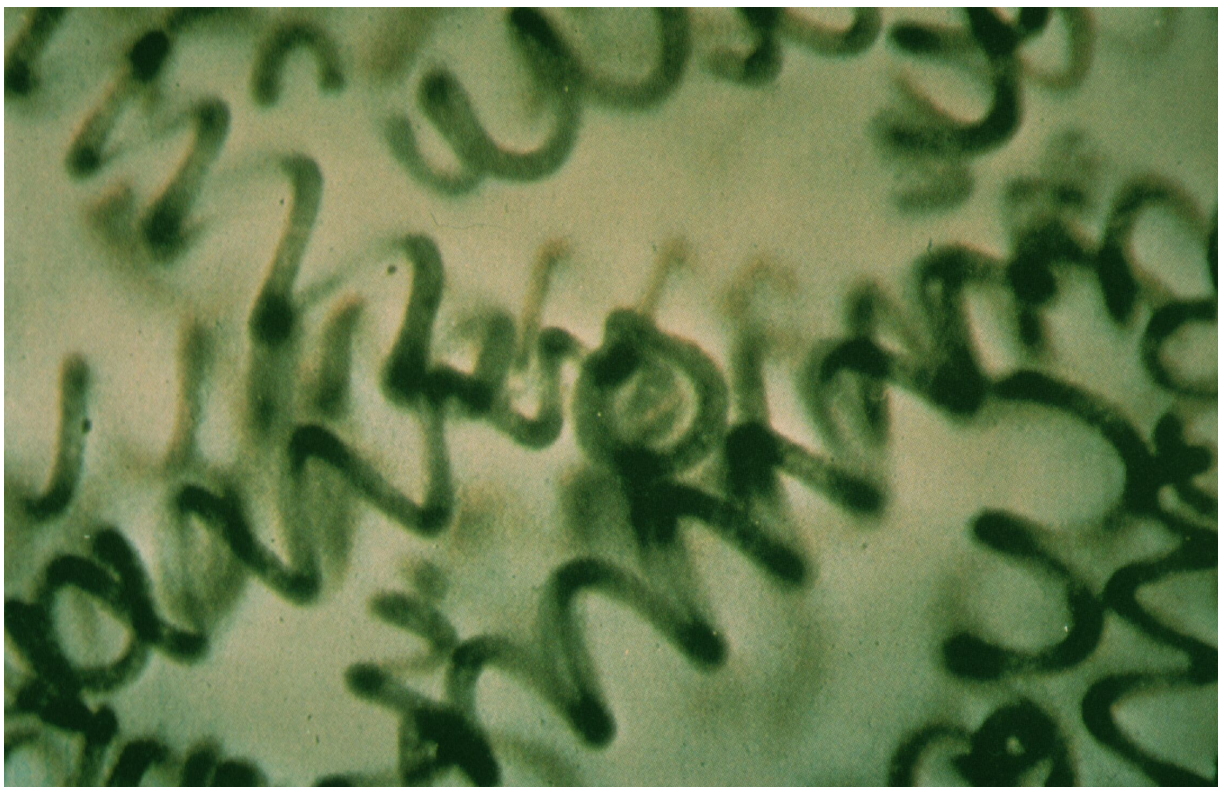
Alga	Locul de cultivare	Perioada*	Productivitatea **
Scenedesmus	Rupite/Bulgaria	200	23
Scenedesmus	Dortmund/Germania	240	11
Scenedesmus	Bangkok/Tailanda	365	15
Spirulina	Mexico/Mexic	365	15
Spirulina	Trujillo/Peru	330	25
Spirulina	Bangkok/Tailanda	365	15
Uronema	Bangkok/Tailanda	-	22

* = zile de cultivare

** = grame substanta uscata/m²/zi

In India, productivitatea culturilor de *Spirulina platensis* in bazine sub cerul liber a fost de 5 – 15 grame/m²/zi.

In cadrul programului de cercetari pentru cultivarea in bazine exterioare a algei *Spirulina platensis* derulat la Statiunea “Stejarul”, (intr-o zona de altfel relativ nefavorabila din punct de vedere climatic) s-au obtinut valori medii ale productiei de biomasa de ordinul a 1 – 5 grame subst.uscata/m²/zi.



Filamente de *Spirulina platensis* – la microscop (dupa Hills, 1981)

2.4 Compozitia chimica a biomasei

S-au acumulat, in decursul timpului, extrem de multe date referitoare la compozitia chimica a biomasei diferitelor feluri de alge. Aceste informatii au prezentat atat o insemnatate pur stiintifica, teoretica, cat si o valoare aplicativa certa.

Pe baza datelor obtinute s-au putut evalua pe de o parte directiile de utilizare practica a biomasei, iar pe de alta parte s-au determinat efectele diferitelor tehnologii de crestere, a variatelor procedee de uscare si prelucrare a biomasei obtinute prin culturi.

Dintre numeroasele date referitoare la compozitia chimica a biomasei, vom prezenta cateva, pentru a ilustra valoarea nutritiva majora a algelor.

Soeder (1976) publica un tabel in care compara datele generale ale compozitiei chimice a biomasei algale (*Scenedesmus* si *Spirulina*) si ale semintelor de soia (valorile reprezinta procente din biomasa uscata).

Constituent	Scenedesmus	Spirulina	Soia
Umiditate	4 - 8	10	7 - 10
Proteina bruta	50 - 56	56 - 62	34 - 40
Lipide	12 - 14	2 - 3	16 - 20
Hidrati de carbon	10 - 17	16 - 18	19 - 35
Fibra bruta	3 - 10	-	3 - 5
Minerale	6 - 10	4 - 6	4 - 5

Chiar din datele, oarecum sumare, cuprinse in tabelul de mai sus se poate observa compozitia chimica extrem de favorabila, care asigura o valoare nutritiva ridicata a biomasei algale, raportata la compozitia boabelor de soia; remarcam, atat la *Scenedesmus*, cat si la *Spirulina* cantitati foarte ridicate de proteine.

In cadul unor cercetari preliminare efectuate la Statiunea "Stejarul" privind cresterea in masa, in bazine sub cerul liber, a algei *Scenedesmus quadricauda*, folosind diferite medii nutritive (varianta 1, de pilda, continand si o anumita cantitate de ape uzate de la o fabrica de hartie si celuloza), analiza biomasei obtinute a aratat urmatoarea compozitie chimica globala (valorile reprezinta grame/100 g masa algala uscata, aceasta incluzand si partea minerala).

Constituent	Varianta 1	Varianta 2	Varianta 3
Substanta organica	34,78	65,01	36,34
Proteina bruta	11,31	33,89	21,52
Lipide	11,44	17,29	3,44
Glucide	12,03	13,83	11,38

Interesante sunt si datele obtinute de cercetatori privitoare la cantitatile de aminoacizi din biomasa algala.

Iata, de exemplu, rezultatele analizelor efectuate de Kosaric et al. (1974) la biomasa de *Spirulina maxima* obtinuta din culturi pe ape uzate; valorile reprezinta grame/100 grame de proteina.

Aminoacidul	Cantitatea
Isoleucina	5,80
Leucina	9,31
Lisina	5,00
Fenilalanina	4,03
Metionina	2,28
Treonina	4,99
Triptofan	-
Valina	6,92

Analiza biomasei obtinute prin cultivarea algei *Spirulina fusiformis* in instalatii de tip industrial, in India, a indicat urmatoarele valori (grame aminoacid/100 g proteina, cf. Seshadri et al., 1980)

Aminoacidul	Cantitatea
Acidul aspartic	7,66
Treonina	3,66
Serina	4,00
Acidul glutamic	13,33
Prolina	3,00
Glicina	4,33
Alanina	7,66
Valina	5,33
Metionina	1,66
Isoleucina	5,00
Leucina	8,33
Tirosina	4,66
Fenilalanina	4,00
Ornitina	-
Cistina	-
Lisina	5,33
Histidina	2,33
Arginina	7,00

Studierea compozitiei chimice a biomasei algele a permis, printre altele, si constatarea unui fenomen rar in lumea vegetala. Concret, a fost descoperita proprietatea unei specii de alge, din grupa algelor verzi (Chlorophyceae), respectiv *Botryococcus braunii* de a produce si de a acumula in biomasa cantitati importante de hidrocarburi.

Analizele au aratat ca la aceasta alga, hidrocarburile constituie 15 – 75 % din greutatea masei uscate, ceea ce reprezinta un record in regnul vegetal. Traind in mod natural in ape dulci sau salmastre din regiuni cu clima temperata sau tropicala, alga se prezinta sub doua forme ce

se deosebesc prin pigmentatia caracteristica, care corespunde si unor deosebiri intre hidrocarburile produse.

Forma verde contine hidrocarburi liniare cu numar impar de atomi de carbon (25 – 31) si sarace in duble legaturi; forma rosie contine hidrocarburi cu 31 – 38 atomi de carbon, si bogate in legaturi duble.

Cercetatorii de la Laboratorul de Chimie bioorganica al Scolii Nationale Superioare de Chimie din Paris, care studiaza aceasta alga din 1976, au reusit ca, prin modificarea conditiilor de cultivare, sa obtina o dublare a biomasei intr-un interval de doua zile in loc de 7, substanta uscata a celulelor rezultate continand 35 % hidrocarburi. Rezultatul obtinut corespundea unei productii de 0,09 grame hidrocarburi/litru mediu nutritiv, respectiv **60 tone/ha/an**.

Mai raman, desigur, multe probleme de rezolvat pentru a se asigura succesul si economicitatea cresterii dirijate a acestei alge, dintre care amintim:

- Eliminarea speciilor de alge concurente si a altor oaspeti nedoriti in culturile la scara mare;
- Clarificarea rolului bacteriilor ce traiesc asociate cu alga, dintre care unele favorizeaza producerea hidrocarburilor;
- Controlul factorilor de crestere pentru obtinerea unei productii optime;
- Identificarea punctuala a factorilor de reducere a pretului de cost al biomasei si al produsului finit.

Din cercetarile – foarte aprofundate – efectuate la Institutul de Biologie din Cluj – Napoca asupra biologiei si biochimiei acestei specii (pe un numar mare de linii genetice, izolate din diferite ecosisteme naturale, prioritar din Muntii Apuseni) a rezultat, printre altele, si faptul ca unele linii genetice, selectate din natura, prezinta, de la bun inceput, capacitatea de a produce cantitati mult mai mari, (chiar duble !) fata de alte linii.

2.5 *Colectii de culturi de alge*

Una dintre premizele biotehnologice ale succesului acvaculturii organismelor vegetale, ale algelor in deosebi, o reprezinta constituirea unor **Colectii de culturi**.

Echivalentul bancilor de gene realizate pentru diferitele grupe de organisme, **colectiile de culturi de alge** au deja o traditie bogata in cateva tari avansate in domeniul cercetarilor algologice.

Mentionam, dintre acestea, bogata colectie de culturi de alge de la Praga care isi are inceputurile in prima decada a secolului XX iar, dupa cel de al II-lea razboi mondial, a fost preluata in ingrijirea Academiei de Stiinte a Republicii Cehoslovace. In timp, colectia s-a diversificat mult, cuprinzand nu numai alge, ci si alte plante inferioare, precum muschii si hepaticile.

Alte colectii importante atat prin numarul de specii/linii pastrate in stare vie ani de zile, cat si prin diversitatea materialului biologic, sunt:

- Colectia de culturi de alge a Universitatii din Göttingen, Germania
- Colectia de culturi de alge a Universitatii din Greifswald, Germania
- Colectia de alge in cultura de la Universitatea de Stat din Sankt Petersburg
- Colectia de culturi de alge si protozoare de la Universitatea Cambridge, Anglia
- Colectia de culturi de alge de la Universitatea Indiana, Bloomington, SUA

- Algoteca Laboratorului de Cryptogamie al Muzeului de Istorie Naturala din Paris
- Colectia de culturi de microorganisme a Universitatii din Tokyo
- Colectia de culturi de alge de la Universitatea de Stat din Chisinau
- Colectia de culturi de alge de la Muzeul National din Budapesta.

La noi in tara, preocuparile pentru infiintarea si mentinerea unor colectii de culturi de alge s-au manifestat de timpuriu. Mentionam ca cercetarile aprofundate efectuate in prima jumatate a secolului XX la universitatile din Bucuresti si Cluj-Napoca de catre Em.C.Teodorescu, respectiv Ioan Grintescu si Stefan Péterfi au avut la baza mici colectii de culturi de alge vii, care au fost sursa de material biologic pentru numeroase cercetari experimentale.

O extindere puternica a cercetarilor pentru infiintarea unei colectii stabile (permanente) de culturi de alge s-a datorat preocuparii sustinute in acest sens a cercetatorului clujean Dr. Francisc Nagy-Tóth care, cu pretul unor eforturi deosebite a realizat – la nivelul anilor '70 - o cuprinzatoare colectie de microalge in cadrul Catedrei de Fiziologia Plantelor de la Universitatea “Babes-Bolyai”. Actiunea a fost reluata ulterior de Dr. Nicolae Dragos de la aceeaasi universitate. In prezent, colectia numara peste 631 specii/linii de alge mentinute in permanenta in stare normala de sanatate.

Importanta, utilitatea majora a unei colectii de culturi de alge rezida - din punct de vedere al obiectivelor acvaculturii, in posibilitatea asigurarii – practic oricand – a unui material biologic de calitate, selectionat, constand in **culturi algologic pure**, apartinand diferitelor specii de alge care sunt vizate ca obiect al cultivarii intensive. Un alt aspect al acestei folosinte consta in faptul ca, din aceeaasi specie, cei interesati pot obtine de la colectiile permanente de culturi, mai multe linii (cu proveniente diferite), care pot prezenta caracteristici variate in ceea ce priveste cresterea, productia de biomasa sau compozitia acesteia.

In esenta, crearea unei **Colectii de culturi de alge** presupune parcurgerea urmatoarelor etape de lucru mai importante:

- Cunoasterea cerintelor ecofiziologice ale algelor, in deosebi a nutritiei acestora;
- Izolarea din ecosisteme naturale a diferitelor specii algale ce pot prezenta interes;
- Pregatirea unor medii nutritive variate, adecvate diferitelor cerinte specifice;
- Asigurarea unei baze materiale strict necesare (precum spatii de cultura - eventual compartimentate, sticlari de laborator, microscopie, sisteme de iluminare reglabile si cu posibilitati de programare a ciclului lumina/intuneric, sisteme de reglare a regimului termic in diferite sectiuni ale colectiei de culturi, echipamente de sterilizare etc.);
- Este, desigur, necesar si un minim personal specializat pentru realizarea si intretinerea culturilor;
- In fine, dar nu in ultimul rand, in conditiile infiintarii unei culturi in contextul economiei de piata, sunt necesare - in mod obligatoriu – actiuni de prospectare preliminara a pietei, pentru identificarea/sensibilizarea potentialilor beneficiari.

Dintre elementele organizatorice si tehnice importante pentru infiintarea unei Colectii de culturi de alge, amintim numai cateva.

In primul rand este bine sa se cunoasca faptul ca exista la ora actuala o Federatie mondiala a colectiilor de culturi (World Federation of Culture Collections), organism profesional menit sa contribuie la dezvoltarea pe plan international a acestor activitati, inclusiv prin adoptarea/recomandarea unor procedee tehnice si a unor masuri organizatorice cu caracter de standard (printre acestea, modalitatile de denominare a colectiilor, de indexare a speciilor si liniilor mentinute in culturi etc).

Dintre mediile nutritive – nespecifice - utilizate in mod curent pentru pastrarea culturilor vii in colectie, mentionam:

- **Mediul Prat**, cu urmatoarea compozitie:

Ingredient	Cantitate (g)
KNO ₃	0,10
K ₂ HPO ₄	0,01
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	0,01
Agar-agar	1,2 %
FeCl ₃ . 6 H ₂ O	0,001
Apa	1000 ml

- **Mediul BBM** (cf. Nichols & Bold):

Ingredient	Cantitate (g)
NaNO ₃	0,250
KH ₂ PO ₄	0,175
K ₂ HPO ₄	0,075
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	0,075
CaCl ₂ . 2 H ₂ O	0,025
NaCl	0,025
KOH 85 %	0,031
Solutie microelemente	1 ml
Solutie chelatizata de Fe	1 ml
Apa	1000 ml

- **Mediul A 41** (cf. Baslerova – Dvorakova):

Ingredient	Cantitate (g)
KNO ₃	0,10
K ₂ HPO ₄	0,01
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	0,01
FeCl ₃ . 6 H ₂ O	0,001
Agar-agar	10,0

Apa distilata	1000 ml
---------------	---------

3 Tehnologii de cultivare intensivă a microalgelor

3.1 *Cultivarea algelor in conditii de laborator*

Dupa cum s-a mentionat, cultivarea algelor in laborator are deja o traditie care depaseste 130 ani. Initial, aceasta preocupare a fost legata in principal de studiile referitoare la fiziologia plantelor in general, la nutritia minerala si fotosinteza in special. Treptat, algologia experimentală s-a dezvoltat puternic, devenind un domeniu important al biologiei vegetale in ansamblul sau.

In prezent, se pot distinge mai multe categorii, respectiv etape de lucru in realizarea culturilor de laborator, dupa cum urmeaza:

- Culturi brute;
- Culturi monoalgale;
- Culturi pure (“axenice”), lipsite de bacterii, ciuperci sau protozoare;
- Culturi intensive.

Culturile brute reprezinta prima etapa de cultivare a algelor in laborator; in esenta, ele sunt reprezentate de probe (fragmente) preluate dintr-o biocenoza naturala si transferate in conditii de laborator. Aici, proba respectiva se poate diviza in mai multe parti, la fiecare fiind apoi adaugate anumite substante nutritive sau chiar medii complete, in functie de specificul biocenozei initiale si de scopurile urmarite. Se recomanda ca o portiune din proba initiala sa fie fixata, urmand a oferi informatii referitoare la compozitia initiala a comunitatilor de alge.

Ulterior, aceste culturi brute, care, de regula contin mai multe specii (dar nu toate speciile existente initial in algocenoza respectiva), servesc drept sursa pentru izolarea unor specii de alge, ce urmeaza a deveni “culturi monoalgale”.

Pentru **izolarea** algelor dintr-o cultura bruta (ori chiar dintr-o proba “vie” colectata direct dintr-un ecosistem natural) se folosesc mai multe metode, dintre care amintim:

- Separarea unor celule/colonii din populatii naturale cu ajutorul unor **tuburi capilare** din sticla, foarte subtiri, care preiau numai o mica parte din comunitatea initiala, uneori chiar numai cateva celule, cenobii sau colonii;
- Utilizarea **metodei dilutiilor succesive**, prin care este redusa foarte mult densitatea numerica a comunitatii initiale de alge, realizandu-se totodata o “dispersare” in spatiu (in mediul nutritiv respectiv) a populatiilor de alge. Se poate

ajunge (pe baza cunoasterii densitatii numerice initiale) la situatia prezentei unei singure celule in 1 ml, de exemplu; prin inocularea mai multor vase de cultura continand medii sterile se poate ajunge, dupa un numar de repetitii, la obtinerea unor culturi monoalgale (“pure algologic”);

- Utilizarea unor **medii nutritive selective**, adaptate cerintelor unui anumit grup de alge (exista medii speciale pentru diatomee, pentru cianoficee, pentru euglenoficee etc);
- Folosirea unor **dispozitive micromanipulatoare**, care permit prelevarea, sub microscop, a unor celule/colonii precise (fie din probe luate din natura, fie din culturi brute, pe medii lichide sau pe medii cu agar) si trecerea lor in conditii de cultura;
- **Centrifugare fractionata** (care permite - in oarecare masura - eliminarea bacteriilor);
- **Tehnica inocularii in agar adanc** si separarea speciilor pe baza miscarilor foto- si geotactice etc.

Culturile monoalgale

Culturile care contin o singura specie de alge reprezinta cea de a doua etapa in dezvoltarea culturilor de laborator. Ele constituie rezultatul separarii dintr-o “policultura”, pe baza uneia sau mai multora dintre tehnicile de izolare enumerate mai sus, a unei singure specii de alge.

Trebuie sa precizam ca, pentru multe directii de investigare, utilizarea culturilor monoalgale nu poate asigura nivelul de precizie si rigurozitate stiintifica necesar. Astfel, in majoritatea proceselor care pot constitui obiectul studiului experimental (fotosinteza, nutritia minerala, eliberarea unor substante ectocrine, rata de inmultire, productivitatea culturii etc), prezenta in mediul de cultura a unor organisme straine, precum bacteriile, micromicetele sau chiar unele protozoare poate determina interferente majore si, in final, alterarea semnificativa a datelor obtinute.

Pe de alta parte, prin consumul complementar de nutrienti, prin elaborarea propriilor ectocrine sau a altor exometaboliti, organismele asociate algelor pot determina modificarea conditiilor de nutritie si de viata ale algei respective si, in final, scurtarea duratei de existenta/folosire a culturii.

In general, se poate considera ca, in conditiile cultivarii la scara mare a algelor, sub cerul liber, in scopul obtinerii de biomasa, culturile de alge pot fi monospecifice, dar nu sunt, de regula, axenice.

Culturile axenice (pure nu numai algologic, ci si bacteriologic).

Aceste culturi de laborator cuprind numai o singura specie de alge, si nu contin bacterii, ciuperci sau protozoare. Ele sunt singurele care pot oferi informatii stiintifice de valoare maxima in cadrul unor cercetari aprofundate de fitofiziologie, biochimie vegetala sau de biotehnologie.

Pentru obtinerea unor culturi axenice se folosesc, in prima instanta, metodele de izolare deja prezentate mai sus. Pentru purificarea culturilor monoalgale, in primul rand prin indepartarea bacteriilor, se folosesc unele metode specifice, precum:

- “spalarea” culturilor monoalgale cu solutii diluate sterile;
- tratarea cu ultrasunete sau cu raze ultraviolete;
- spalarea algelor cu solutii dezinfectante, la anumite dilutii (fenol, hipoclorit, benzalconium clorid, anumiți detergenți);
- tratarea algelor din culturile monoalgale cu antibiotice, bacteriostatice sau micostatice.

Volumul de munca foarte mare pe care il implica trierea si intretinerea culturilor pure poate fi redus, conservandu-le in stare vie, timp indelungat, prin liofilizare, la intuneric, sau la temperaturi joase, in luminostate speciale. Dupa diferiti autori, aceste metode de pastrare a algelor determina slabe influente genetice (sau chiar nici una) asupra materialului biologic.

Culturile intensive

Cresterea intensiva a algelor in conditii de laborator vizeaza in principal cercetari ce necesita obtinerea, relativ rapid, a unor cantitati destul de mari de biomasa, fie elaborarea unor procedee biotehnologice aplicabile in acvacultura la scara mare.

3.2 Instalatii de cultivare

Pentru culturile brute sau cele monoalgale, cel mai adesea se utilizeaza asa numitul sistem de “cultura statica”. Practic, vasele de cultura (care pot fi eprubete, baloane Erlenmeyer de diferite capacitati, etc), cu mediile nutritive respective, sunt lasate in repaus relativ in apropierea unei surse convenabile de lumina, procedandu-se uneori la agitarea periodica, manuala, a culturii. In timp, se preleveaza probe pentru examinarea la microscop a algelor, pentru determinarea continutului de clorofila etc.

Tot sistemul de culturi “statice” se utilizeaza si in cazul colectiilor permanente de culturi de alge.

Pentru culturile intensive se utilizeaza aparate speciale, numite uneori “reactoare”, adesea extrem de complicate.

In aceste echipamente se asigura si se regleaza unii parametri importanti ai mediului de crestere, precum:

- temperatura;
- intensitatea luminii si regimul de iluminare;
- agitarea/barbotarea suspensiei de alge (cu dispozitive mecanice, sau prin introducerea sub presiune a aerului, eventual imbogatit cu dioxid de carbon);
- turbiditatea generala a suspensiei de alge in mediul lichid;
- pH-ul mediului;
- compozitia chimica a mediului de crestere etc.

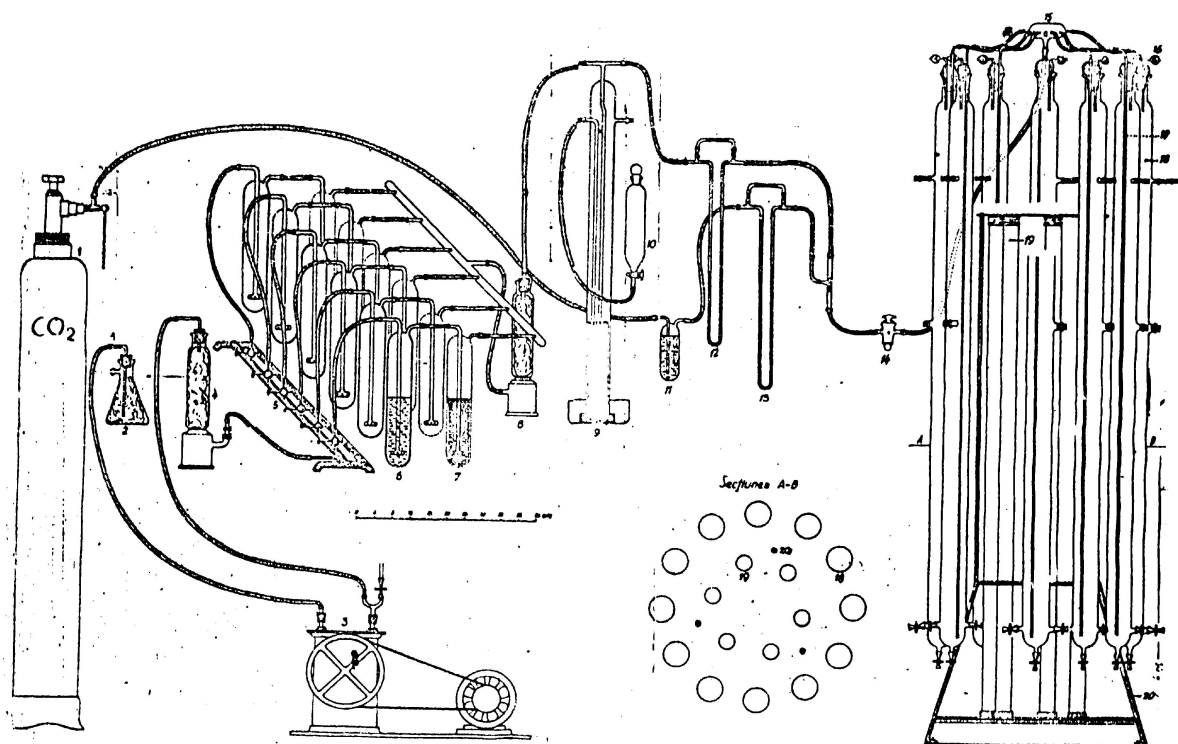
Anumite sisteme de crestere intensiva permit recoltarea partiala a biomasei algale produse, atunci cand turbiditatea prea mare a suspensiei determina reducerea productiei de biomasa.

In prezent, odata cu dezvoltarea semnificativa a sistemelor de automatizare bazate pe tehnicile informatice si pe aparitia unor sensori fizici sau chimice de mare sensibilitate, cultivarea intensiva a algelor in laboratoarele avansate a cunoscut un progres remarcabil.

Dintre dispozitivele utilizate curent pentru culturi intensive de laborator amintim numai cateva, nu fara a preciza ca varietatea lor este cu totul remarcabila, ca rezultat al conceptiei de elaborare, a scopurilor pentru care au fost concepute si, nu in ultimul rand, datorita mijloacelor materiale ce au stat la indemana cercetatorilor.

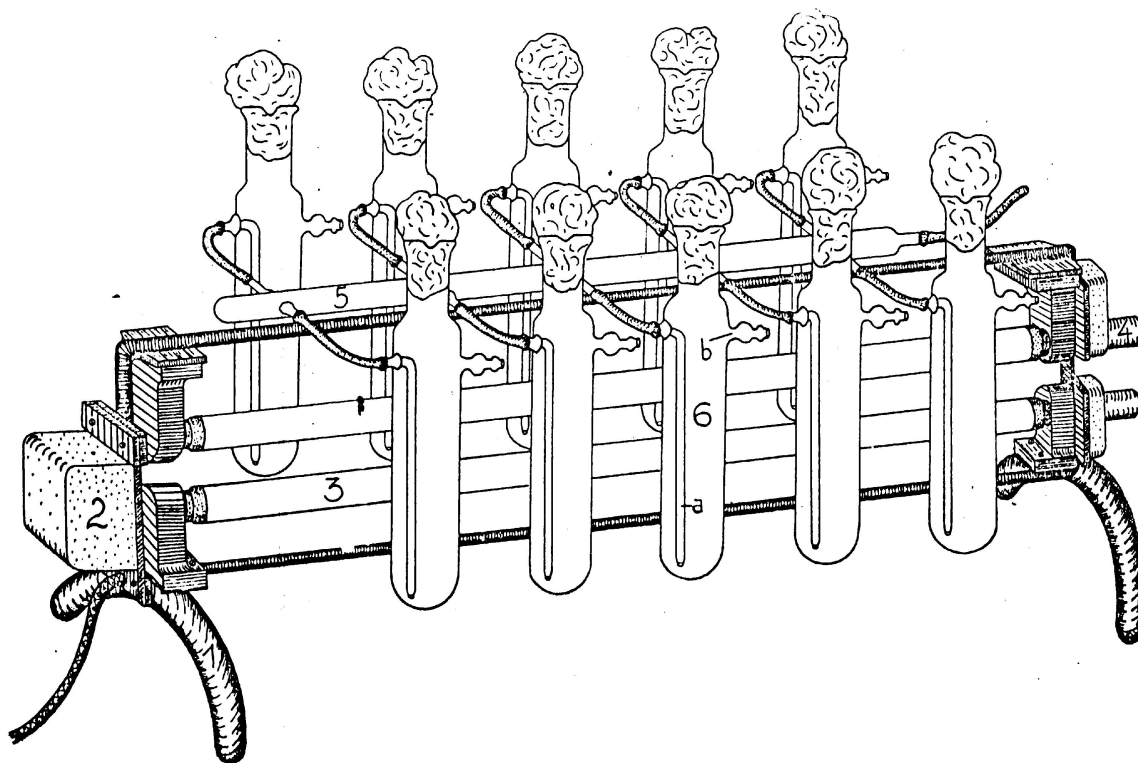
Tuburile verticale, confectionate din sticla sau din diferite materiale plastice (plexiglas etc), au dimensiuni si volume foarte variate. Ele sunt amplasate de regula in apropiere si paralel cu tuburi fluorescente care asigura energia luminoasa necesara fotosintezei. In unele variante constructive, se folosesc tuburi cu diametru mai mare, in interiorul carora este amplasat tubul fluorescent, suspensia algala gasindu-se intre suprafata interioara a tubului cu diametrul mare si suprafata exterioara a tubului fluorescent.

In aceste dispozitive de cultivare se asigura barbotarea cu aer a suspensiei, cat si posibilitatea recoltarii unor probe de suspensie algala, sau adaugarea unor cantitati de solutie nutritiva proaspata.



Instalatie cu tuburi verticale de sticla
(dupa Nagy-Tóth, 1972)

Vasele tip “spalator de gaz”, cu diferite capacitati (250 sau 500 ml, etc) se preteaza, de asemenea, pentru realizarea unor instalatii de cultivare intensiva a algelor in laborator. Prin amplasarea lor, in suporturi speciale din plexiglas, in apropierea unor lampi fluorescente, se poate asigura o intensitate maxima a fluxului luminos de ordinul a 4500 luxi. Unul dintre avantajele acestei instalatii este acela ca se pot – de exemplu - testa, simultan, mai multe variante de cultivare (deosebite, de pilda, prin compozitia mediului nutritiv), sau mai multe specii/linii ale aceleiasi specii de alge, etc. O varianta la acest sistem o reprezinta utilizarea unor vase de cultura tip Roux, asezate in pozitie orizontala si formand “baterii” de diferite marimi. Iluminarea poate fi efectuata din doua parti – de sus si de dedesubt, ceea ce asigura culturii un randament de crestere superior.

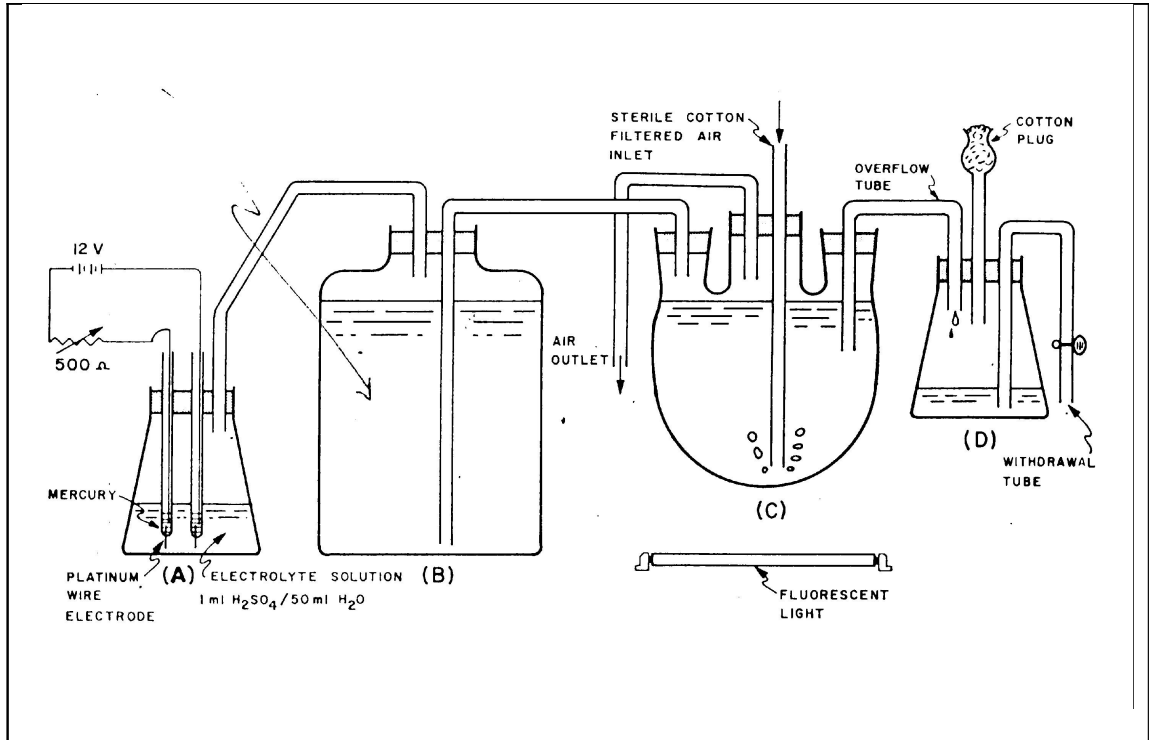


Instalatie de cultura cu vase tip spalatoare de gaz

Vasele paralelipipedice (cuve) din plexiglas pot fi utilizate cu succes in cercetari vizand determinarea rolului grosimii stratului de suspensie (alge + mediu nutritiv) in raport cu lumina incidenta. Vasele sunt prevazute cu racorduri pentru barbotare si pentru conectarea in serii. Ele

sunt luminate din doua parti (cel mai eficient mod de iluminare); in functie de numarul si puterea tuburilor fluorescente din instalatie, se poate obtine un nivel de iluminare de 2×14000 , sau altul.

Pentru a ilustra marea varietate a tipurilor de instalatii de crestere in laborator a microalgelor, prezentam mai jos un chemostat relativ simplu construit de Carpenter (1968); dupa aprecierea autorului, echipamentul conceput prezinta avantajul evitarii unor pompe electromecanice scumpe; totodata, intregul aparat poate fi usor sterilizat ca un intreg, daca se indeparteaza, pe timpul autoclavariei, dopurile din cauciuc.



Schema chemostatului tip Carpenter

Instalatia dispune de o pompa electrolitica (A), care genereaza un amestec gazos sub presiune, ce inlocuieste volumul mediului nutritiv din rezervorul special (B) cu capacitatea de max. 4 litri solutie. Din acesta, mediul trece in vasul propriu zis de cultura (C), cu capacitatea de 2 litri, prevazut cu 3 deschideri la partea superioara. Prin deschiderea centrala patrunde tubul de barbotare si cel de evacuare a amestecului gazos. Luminarea culturii se face de jos in sus. Un al patrulea vas (D) asigura prevenirea contaminarii “retrograde” a culturii. Pe traseul circuitului de barbotare se afla un filtru de vata sterila.

O problema speciala a cultivarii algelor in laborator se refera la **intensitatea fluxului luminos** la nivelul suprafetei culturii.

Numeroase cercetari indica nivele optime cuprinse intre 4000 – 10000 luxi.

In ceea ce priveste **raportul dintre perioada de intuneric si cea de lumina** pe parcursul a 24 ore, nu exista “reguli” speciale, unitare, sau unanim acceptate.

Numerosi autori au folosit raportul de 12 ore lumina : 12 ore intuneric; altii recomanda 8 ore lumina : 16 ore intuneric, sau 10 ore lumina : 14 ore intuneric.

In ceea ce priveste **temperatura mediului de crestere**, aceasta poate varia in functie de cerintele ecologice ale algelor cu care se lucreaza. Daca in mod obisnuit - in cazul culturilor de alge verzi (*Chlorella*, *Ankistrodesmus*, *Scenedesmus*, *Coelastrum*, *Monoraphidium*), se lucreaza la temperatura camerei, sau, atunci cand se dispune de sisteme de termostatare, la 20 – 25°C, de regula.

In cazul cultivarii unor alge termofile (diferite specii de alge albastre, printre care si *Spirulina platensis*, sau alte alge cu cerinte ridicate fata de temperatura), este indispensabila utilizarea unor dispozitive de termostatare, cu ajutorul carora sa se realizeze un nivel termic constant de ordinul a 28 – 30°C.

Pentru **omogenizarea** suspensiilor, si, dupa caz, pentru asigurarea necesarului de dioxid de carbon, se folosesc dispozitive de barbotare cu aer imbogatit cu CO₂.

In general, adausul de dioxid de carbon in aer este de ordinul a 3 – 5 %.

Debitul de amestec gazos pentru barbotare este, in cazul tuburilor verticale, de ordinul a 10 – 15 ml/minut/100 ml suspensie, iar in cazul vaselor paralelipipedice, descrise mai sus, debitul necesar este de ordinul a 65 – 70 ml/min/100 ml suspensie. Debitul de gaz este mai mic in primul caz, deoarece bulele parcurg un traseu mai lung (de peste 1 metru) in instalatiile bazate pe tuburi, ceea ce faciliteaza dizolvarea dioxidului de carbon in mediul apos respectiv.

Mentionam ca **sistemul de barbotare** se compune, in principiu, dintr-un compresor electric, o butelie cu dioxid de carbon sub presiune, regulatorul de presiune pt. CO₂, sistem de purificare si sterilizare a aerului, sistem de distributie a amestecului gazos in recipientele de cultivare a algelor.

Pentru purificarea si sterilizarea aerului se folosesc, succesiv, vase cu solutie de KMnO₄ 5 % sau cu H₂SO₄ concentrat apoi cu apa sterilizata; in circuitul amestecului gazos sunt intercalate si filtre de vata asezate inaintea, intre si dupa spalatoarele continand KMnO₄ sau H₂SO₄ (Nagy-Tóth, 1972).

Dintre “detaliile tehnice” importante pentru reusita culturilor intensive de laborator, mai amintim doua:

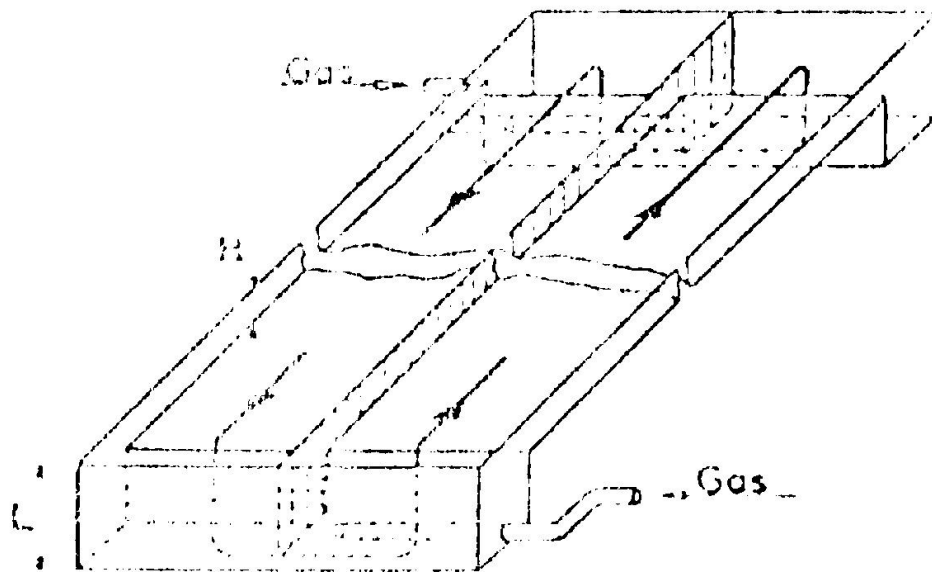
- utilizarea unei piese speciale din sticla, cu trei cai, introdusa in circuitul gazos la punctul de unificare a curentului de aer furnizat de compresorul electric cu curentul de CO₂ provenit din butelia de presiune; prin modul de constructie al acestei piese se asigura producerea unui vartej gazos, respectiv un amestec uniform al aerului cu dioxidul de carbon;
- orificiile prin care patrunde amestecul gazos in suspensia algala trebuie sa fie foarte mici, pentru ca gazul sa se disperseze sub forma unor bule extrem de mici, uniforme. In acest fel, pe de o parte se obtine un efect superior de omogenizare a suspensiei si de transfer in solutie a dioxidului de carbon necesar, iar pe de alta parte turbulenta mediului nutritiv se mentine la nivel moderat, ceea ce nu deranjeaza desfasurarea oarecum normala a proceselor fiziologice ale algelor de tip planctonic, adaptate la viata in stare de plutire intr-un mediu relativ linistit. Cele

mai bune sisteme de distributie a amestecului gazos in mediile nutritive pentru microalge folosesc “orificii” formate din filtre ceramice.

Pentru **cultivarea la scara mare** a algelor se folosesc instalatii foarte variate ca si concepie, ca dimensiuni si ca forma.

Au fost imaginate instalatii foarte simple, constand in canale de mica adancime practicate in sol, captusite cu folie din polietilena, dar au fost construite si instalatii industriale speciale, de mari dimensiuni, alcatuite din bazine betonate, circulare sau de alta forma, prevazute cu sisteme de agitare a suspensiei algale, cu sisteme de aerare, de recoltare sau chiar cu dispozitive de reglare a unor parametri de crestere (inclusiv automatizate). Este evident ca realizarea unor instalatii foarte sofisticate, dotate cu tehnica de varf, implica mari cheltuieli de investitii, care vor majora, in final, pretul de cost al produsului.

Dintre instalatiile de tip industrial, relativ simple, si foarte eficiente in ceea ce priveste productivitatea culturilor algale, mentionam pe cea realizata la Institutul Francez al Petrolului, pentru cultivarea in masa a Spirulinei, instalatie care a fost apoi preluata de multi din cei care se ocupa de cresterea acestei alge in scop de productie. In esenta, instalatia la care ne referim consta dintr-un bazin rectangular din beton, de forma alungita. El este prevazut, in plan longitudinal, cu un perete despartitor median, si cu doua adancituri la capete. In aceste adancituri sunt amplasate doua tevi prin care aerul (de regula imbogatit cu dioxid de carbon) este introdus sub presiune in mediul nutritiv; masa de bule de gaz care se ridica permanent spre suprafata mediului nutritiv determina nu numai imbogatirea acestuia cu dioxidul de carbon necesar pentru stimularea cresterii algelor, ci genereaza si un curent continuu a suspensiei algale de-a lungul celor doua jumatati de bazin.



Schema bazinului tip “air-lift”

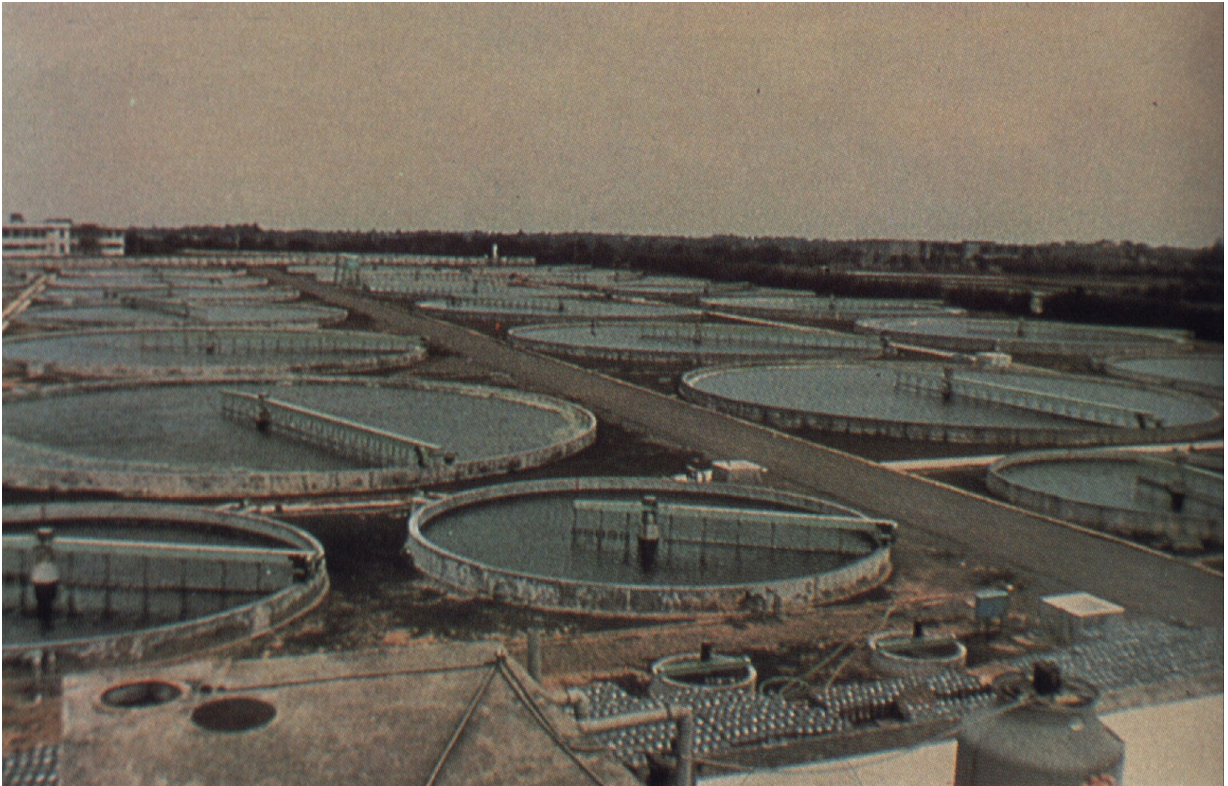
Plecand de la acest tip de bazin, care, de altfel, a dat rezultate foarte bune in productia industrială a biomasei algale, alti specialisti au optat pentru modificarea principiului de asigurare a circuitului de suspensie algala, prin inlocuirea sistemului de antrenare a mediului nutritiv de catre curentul de bule de gaz, cu un dispozitiv mecanic, simplu, constand in doua (sau mai multe) “zbaturi” miscate de motoare electrice. Un autor, proiectand astfel de sisteme de cultura pentru tarile sarace, respectiv pentru instalarea lor in zone defavorizate, lipsite de curent electric, a imaginat un sistem mecanic de antrenare a “zbaturilor” pus in miscare de o greutate mare, ridicata periodic (printr-un scripete actionat manual) pe un suport foarte inalt; prin coborarea lenta a greutatii (franata printr-un mecanism special) se asigura functionarea zbaturilor pe durata unei zile.

In imaginile de mai jos sunt prezentate sisteme de productie industrială, la scara mare, a biomasei de *Spirulina*.



Se remarca in aceasta fotografie acoperirea bazinelor cu o structura transparenta, astfel ca suspensia de alge primeste integral lumina zilei; in bazine, suspensia densa de alge este continuu agitata de un sistem cu zbat-uri, ce se poate observa in ultimul plan al imaginii. Fotografia reprezinta o instalatie care functioneaza in Taiwan; o instalatie asemenatoare a fost construita la Bucuresti.

O alta instalatie, de capacitate productiva mult mai mare, cu bazine circulare, construita tot in Taiwan, este reprezentata mai jos. Bazinele au un diametru de cca 45 metri iar adancimea suspensiei algale este de ordinul a 50 cm; agitarea culturii se face cu ajutorul unui brat mobil radial, care totodata injecteaza in mediul de crestere a algelor aer sub presiune, in care s-a adaugat dioxid de carbon – 20 % pt. *Chlorella* si 10 % pentru cultura de *Spirulina*.



Instalatii de cultivare industrială a microalgelor (din Hills, 1981)

3.3 Medii nutritive

De-a lungul timpului, pe baza a numeroase cercetari experimentale si a investigarii cerintelor ecofiziologice ale diferitelor specii de alge, au fost elaborate diverse retete ale unor medii nutritive menite sa raspunda in mod adecvat cerintelor nutritionale generale ori celor specifice, proprii anumitor grupuri de alge.

Dintre mediile nutritive cu **spectru larg de aplicabilitate**, mentionam cateva.

- Mediul Benecke

Ingredient	Cantitatea (g)
Ca(NO ₃) ₂ . 4 H ₂ O	2,0
K ₂ HPO ₄	0,36
MgSO ₄ .7 H ₂ O	0,2
FeSO ₄	0,005
EDTA-Na ₂	0,1
Solutie microelemente A ₄	1 ml
Solutie microelemente B ₇	1 ml
Apa	1000 ml

- Mediul Knop

Ingredient	Cantitate (g)
Ca(NO ₃) ₂ . 4 H ₂ O	0,25
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	0,06
KH ₂ PO ₄	0,06
KCl	0,03
Fe ₂ Cl ₆	1 picatura sol.1%
Apa	1000 ml

- Mediul Knop-Pringsheim

Ingredient	Cantitate (g)
KNO ₃	1
Ca(NO ₃) ₂ . 4 H ₂ O	0,1
K ₂ HPO ₄	0,2
MgSO ₄ . H ₂ O	0,1
FeCl ₃ .6 H ₂ O	0,01
EDTA-Na ₂	0,3
Apa dedurizata	1000 ml

- Mediul Tamyia

Ingredient	Cantitate
KNO ₃	5,0
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	2,5
KH ₂ PO ₄	1,25
FeSO ₄ . 7 H ₂ O	0,003
EDTA-Na ₂	0,037
Solutie microelemente	1 ml

Apa	1000 ml
-----	---------

- Solutia de microelemente are urmatoarea compozitie:

Ingredient	Cantitate (g/l)
HBO ₃	2,86
MnCl ₂ . 4 H ₂ O	1,81
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	0,222
MoO ₃	176,4 mg/10 l
NH ₄ NO ₃	229,6 mg/10 l

- Mediul Hindak

Ingredient	Cantitate (g/l)
(NH ₄)CO ₃	3
(NH ₄)SO ₄	0,3
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	5,0
KH ₂ PO ₄	2,5
H ₃ BO ₃	0,006
FeSO ₄ . 7 H ₂ O	0,04
CaCl ₂ . 2 H ₂ O	0,04
ZnSO ₄ . 7 H ₂ O	0,025
MnSO ₄ . 7 H ₂ O	0,006
Na ₂ MoO ₄ . 2 H ₂ O	0,005
CuSO ₄ . 5 H ₂ O	0,008
CoCl ₂ . 6 H ₂ O	0,002
EDTA-Na ₂	0,35
Apa	1 litru

- Mediul Czurda

Ingredient	Cantitate (g)
KNO ₃	0,2
Ca(NO ₃). 4 H ₂ O	0,06
K ₂ HPO ₄	0,04
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	0,03
FeCl ₃	Urme
Extract de sol	10 ml
Extract de Sphagnum (turba)	5 ml
Apa bidistilata	1000 ml

- Mediul Chu-10

Ingredient	Cantitate (g)
Ca(NO ₃) ₂ . 4 H ₂ O	0,04

K ₂ HPO ₄	0,01
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	0,025
Na ₂ CO ₃	0,02
Na ₂ SiO ₃ . 9 H ₂ O	0,02
FeCl ₃ . 6 H ₂ O	0,0008
Solutie de microelemente	1 ml
Apa	1000 ml

Solutia de microelemente are urmatoarea compozitie:

Ingredient	Cantitate (g)
ZnSO ₄ . 7 H ₂ O	0,002
MnSO ₄ . 4 H ₂ O	0,002
AlCl ₃	0,002
H ₃ BO ₃	0,002
LiCl	0,001
CoCl ₂ . 6 H ₂ O	0,001
Apa distilata	1000 ml

Au fost elaborate si alte medii nutritive, mult mai specializate, adaptate in mod special necesitatilor nutritive ale unor anume grupe de alge. Dintre numeroasele retete publicate de specialisti, prezentam numai cateva.

- Mediu L 541/a - pentru *Dunaliella*

Ingredient	Cantitate (g)
NaCl	30
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	0,01
KNO ₃	0,1
K ₂ HPO ₄	0,01
FeCl ₃ . 6 H ₂ O	0,001
Extract de sol	50 ml
Apa distilata	1000 ml

- Mediul Schönborn - pentru *Euglena*

Ingredient	Cantitate (g)
NH ₄ NO ₃	1,0
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	0,2
KH ₂ PO ₄	0,2
CaCl ₂ . 2 H ₂ O	0,1

MnCl ₂ . 4 H ₂ O	0,0001
FeCl ₃ . 6 H ₂ O	0,0025
Apa	1000 ml

- Mediul Würtz – pentru *Pandorina morum*

Ingrediente	Cantitate (g)
NH ₄ NO ₃	0,2
HK ₂ PO ₄	0,04
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	0,03
Citrat de fier	0,001***
CaCl ₂	0,01***
Apa distilata	1000 ml

Ingredientele notate cu (***) se adauga in solutie dupa sterilizarea acestuia.

- Mediul Higashiyama - pentru *Chlorella*

Ingrediente	Cantitate (g)
KNO ₃	2,53
KH ₂ PO ₄	2,4
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	4,8
FeSO ₄ . 7 H ₂ O	0,001
Citrat de potasiu	0,003
Solutie microelemente Arnon A ₅	1 ml
Apa bidistilata	1000 ml

- Mediul Zarrouk - pentru *Spirulina platensis*

Ingrediente	Cantitate (g)
NaHCO ₃	16,8
K ₂ HPO ₄	0,5
NaNO ₃	2,5
K ₂ SO ₄	1,0
NaCl	1,0
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	0,2
CaCl ₂ . 2 H ₂ O	0,04
Solutie microelemente	1 ml
Solutie chelatizata de Fe	1 ml
Apa	1000 ml

Solutia de microelemente are urmatoarea compozitie:

Ingrediente	Cantitate (g)
H ₃ BO ₃	2,860
MnSO ₄ . 4 H ₂ O	2,030
ZnSO ₄ . 7 H ₂ O	0,222
MoO ₃ (85 %)	0,018
CuSO ₄ . 5 H ₂ O	0,079
Co(NO ₃) ₂ . 6 H ₂ O	0,494
Apa distilata	1000 ml

Solutia chelatizata de Fe se prepara (dupa Schlösser, 1982), astfel: se dizolva 0,69 g FeSO₄. 7 H₂O si 0,93 g Na₂EDTA in 80 ml apa distilata, fierbandu-se putin timp. Dupa racire la temperatura camerei solutia se aduce la 100 ml. Daca apare un precipitat, se va agita bine inainte de folosire.

- Mediul B pentru *Diatomee* (Schlösser)

Ingrediente	Cantitate (g)
Ca(NO ₃) ₂ . 4 H ₂ O	0,040
K ₂ HPO ₄	0,010
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	0,025
Na ₂ CO ₃	0,020
Na ₂ SiO ₃ . 5 H ₂ O	0,050
Citrat feric	0,010
Acid citric	0,010
Cianocobalamina	5.10 ⁻⁶
Extract de sol	30 ml
Solutie de microelemente	1 ml
Apa	1000 ml

Solutia de microelemente este cea prezentata anterior (la reteta de mediu pentru *Spirulina*).

Desigur ca aceste retete de medii nutritive nu trebuie privite ca elemente ale unor proceduri standardizate, imuabile. Plecand de la analiza principalelor raporturi ionice care le caracterizeaza compozitia chimica a mediilor prezentate, dar si de la propriile observatii referitoare la cerintele nutritionale ale diferitelor populatii de alge, de la datele privind analiza compozitiei chimice a biomasei algelor, cat si de la observatiile altor autori, se pot experimenta variante originale de medii nutritive pentru diferitele tipuri/grupe/specii de alge.

In cele de mai sus au fost prezentate retete ale unor medii nutritive concepute si utilizate in **practica cercetarilor de laborator**.

In cadrul tehnologiilor de cultivare intensiva, la scara mare, a unor alge - in scopul obtinerii unei productii de biomasa, alegerea unor medii nutritive trebuie sa tina seama nu numai de cerintele ecofiziologice ale obiectului acvaculturii, de specificul culturilor

(monocultura, policultura), de viteza de epuizare a capacitatii trofice a solutiilor nutritive in functie de conditiile de crestere, dar si de **criterii de eficienta economica**, care implica alternativa utilizarii unor nutrienti mai ieftini, provenind din produse de uz industrial, agricol sau de alta natura (de exemplu, utilizarea unor ape minerale naturale).

In experiente efectuate la scara mare in India, spre exemplu (Venkataraman, 1980), s-a incercat utilizarea unor medii nutritive bazate pe ingrasaminte agricole la care s-au adaugat dejectii animaliere in anumite proportii, sau reziduri de la instalatiile de productie a biogazului (“metantancuri”), etc. Ca sursa de carbon a fost utilizat fie bicarbonatul, fie un sistem de barbotare a suspensiei algale cu aer imbogatit cu dioxid de carbon.

In cadrul programului de cercetare derulat timp de cativa ani la Statiunea de Cercetari “Stejarul” din Pangarati (judetul Neamt), au fost experimentate mai multe variante de medii nutritive utilizabile in cultura pe scara mare a Spirulinei (dar si a altor alge, precum specii din genul *Scenedesmus*), in scopul reducerii semnificative a pretului de cost al biomasei obtinute.

Principalele directii (cai) abordate in acest scop au fost:

- inlocuirea unor reactivi chimici de laborator, cu grad avansat de puritate si foarte scumpi, cu unele **substante de uz alimentar**; in acest sens, mentionam utilizarea bicarbonatului de sodiu alimentar in locul substantei “chimic pure”;
- inlocuirea unor reactivi de laborator cu **substante de uz tehnic**: astfel, ca sursa de fier in mediul nutritiv a fost utilizat sulfatul feros de uz industrial (folosit de ex. in industria pielariei); ca sursa alternativa de fosfor a fost experimentat fosfatul trisodic tehnic, produs intrebuintat curent pentru prevenirea depunerilor calcaroase in instalatiile termice cu apa incalzita;
- utilizarea unor **ingrasaminte chimice agricole**, precum ureea, sau azotatul de amoniu, ca surse de azot ;
- introducerea in compozitia mediilor nutritive pentru alge a unor **ape minerale** care pot asigura necesarul fata de anumiti nutrienti necesari algelor; astfel, pentru acoperirea necesitatilor in raport cu ionul potasiu, a fost investigata posibilitatea utilizarii in anumite concentratii a unor ape minerale cu continut ridicat de saruri de potasiu, provenind din izvoare de pe teritoriul judetului Neamt.

Trebuie sa subliniem ca utilizarea in compozitia mediilor nutritive a unor “inlocuitori” in scopul reducerii pretului de cost al produsului final urmeaza sa se faca in conditii de maxima precautie, pentru a se evita modificari nedorite in compozitia chimica a biomasei rezultate din cultivare (precum acumularea unor cantitati prea mari de saruri minerale, acumularea unor metale grele sau chiar a unor pesticide etc.).

3.4 *Procedee de recoltare*

In cazul **culturilor de laborator**, recoltarea biomasei rezultate in instalatiile – de regula de capacitate redusa - se poate face folosind una din urmatoarele procedee de baza:

- Centrifugarea suspensiei algale (utilizabila la majoritatea culturilor de microalge, cu exceptia cianoficeelor, care prezinta capacitate de plutire);
- Filtrarea suspensiei algale prin sisteme de retinere adecvate (filtre din fibra de sticla, din hartie, filtre ceramice, site metalice sau din fire sintetice, etc).

In cazul **culturilor la scara mare**, alegerea procedului de recoltare a biomasei depinde de mai multi factori, printre care:

- Dimensiunea si forma organismelor cultivate;
- Specificul proceselor de acvacultura;
- Productivitatea culturilor.

In functie de factorii de mai sus, la care se adauga criteriile de natura logistica si economica, se pot utiliza procedee precum:

- Oprirea sistemelor de agitare (barbotare) a suspensiei algale, pentru facilitarea sedimentarii naturale a celulelor (cenobiilor sau coloniilor) pe fundul bazinelor de crestere, respectiv pentru acumularea la suprafata mediilor nutritive a biomasei plutitoare (in cazul cianoficeelor flotante);
- Colectarea biomasei algale depusa pe fundul bazinelor cu ajutorul unor dispozitive simple de sifonare;
- Colectarea biomasei cianoficeelor flotante acumulata la suprafata mediului nutritiv dupa oprirea sistemelor de agitare a suspensiilor, cu ajutorul unor dispozitive cu site, tip fileu planctonic;
- Centrifugarea – cu ajutorul unor centrifugi tehnice cu flux continuu – a suspensiei de microalge, utilizabila mai ales in cazul cultivarii algelor cu dimensiuni celulare foarte reduse, precum *Chlorella*, ce nu pot fi retinute in mod eficient de sistemele actuale de filtrare.

3.5 *Procedee de prelucrare a biomasei*

Este evident ca biomasa alga recoltata din bazinele de cultivare nu poate fi utilizata imediat, integral, la fata locului. Pe de o parte, este de presupus ca scopul productiei nu a fost acesta, iar pe de alta parte sunt necesare anumite operatiuni de conditionare a biomasei in vederea pastrarii ei ulterioare ori pentru utilizarea sa in continuare.

In esenta, actiunile de prelucrare a biomasei pot viza una sau mai multe dintre urmatoarele operatiuni, in functie de specificul culturii si de destinatia previzibila a productiei obtinute. Dintre operatiile de prelucrare mai importante necesare mentionam urmatoarele.

- “Spalarea” biomasei, respectiv indepartarea resturilor de mediu nutritiv din masa alga, ce se prezinta de regula sub forma unei paste cu continut ridicat de lichid. In cazul recoltarii biomasei algale prin centrifugare in flux continuu, cea mai mare parte a mediului nutritiv este recuperata si restituita in bazinele de cultura; in acest procedeu tehnologic “pasta” alga rezultata este destul de consistenta, cuprinzand relativ putin mediu lichid. Pentru indepartarea nutrientilor si a celorlalte

substante prezente in mediul nutritiv (in deosebi produse extracelulare ai metabolismului algal), este de regula suficienta resuspensionarea masei algale intr-un volum de apa curata egal cu de 10 – 15 ori volumul pastei recoltate initial, operatia fiind repetata de doua ori; evident, dupa fiecare resuspensie a biomasei, este necesara repetarea procedurii de concentrare/recoltare a biomasei algale respective. In cazul utilizarii unor medii nutritive mai concentrate (asa cum este cazul culturilor de *Spirulina*, unde cantitatea de saruri din mediu se apropie de 20 grame/litru), operatiunile de “spalare” a biomasei sunt mai complicate. Este necesara repetarea spalarii, utilizarea unor cantitati mai mari de apa, eventual folosirea unor cantitati mai mari de apa incalzita, pentru a mari capacitatea sa de dizolvare a sarurilor. O metoda specifica distincta consta in tratarea biomasei de *Spirulina* cu o solutie de acetat de amoniu cu concentratia de 1,5 %; utilizarea acesteia asigura eliminarea compusilor carbonati insolubili sau greu solubili in apa, prevenind concomitent permeabilizarea membranelor celulare si iesirea compusilor cu masa moleculara mica in solutia de lavaj.

- O alta cale de tratare a biomasei de *Spirulina* consta in spalarea ei cu o solutie de acetat de amoniu avand concentratia de 1,5 %, in acest fel obtinandu-se indepartarea surplusului de saruri; se asigura atat eliminarea compusilor carbonati indolubili sau greu solubili in apa, cat si prevenirea permeabilizarii membranelor celulare si iesirea din celula a compusilor cu masa moleculara mica.
- In cazul biomasei de *Spirulina*, dupa spalare, aceasta este resuspendata in apa, in proportia de 10 grame (substanta uscata)/1 litru apa, si tratata cu ultrasunete (22 kHz) pentru perioade de cate 30 secunde, de 5 ori, la intervale de 60 secunde, pana la dezintegrarea completa a celulelor de *Spirulina*.
- O alta operatie de prelucrare a biomasei se refera la **uscarea** acesteia. Operatia este destul de importanta, mai ales prin felul in care este executata. Din testele de laborator pentru utilizarea unor etuve (cu ventilatie) s-a constatat ca este indispensabila uscarea foarte rapida a pastei de alge (la nivel de cateva ore); pe de alta parte, ridicarea temperaturii - in vederea accelerarii pierderii apei din masa algala - este limitata pana la valori ce nu pot depasi 38 – 40°C, pentru a nu se ajunge la alterarea ireversibila a unor componente chimice ale biomasei (in primul rand a proteinelor). Este necesara depunerea biomasei algale pe tavile destinate uscarii in straturi uniforme, de cca 1-1,5 cm grosime, iar pe parcursul uscarii este indispensabila amestecarea repetata a biomasei.
- O alternativa - utilizabila in raport cu anumite folosinte - o reprezinta **congelarea** biomasei (la – 15 ... - 18°C), ceea ce asigura o pastrare indelungata a biomasei algale, intr-o stare foarte apropiata de cea proaspata.
- In vederea pastrarii, sau a utilizarii ulterioare, este necesara si **macinarea** acesteia, respectiv obtinerea unei pulberi fine, omogene, care se poate usor introduce in anumite preparate, sau se poate folosi pentru producerea unor tablete de calitate. Pentru aceasta operatie se poate folosi, in conditii de laborator (la scara mica), o rasnita de cafea, iar in conditii de productie la scara pilot sau chiar la nivel industrial, se utilizeaza instalatii tip “moara” de diferite capacitati.
- La nivelul productiei industriale, uscarea si obtinerea “fainii” de alge, se folosesc instalatii de tipul atomizoarelor – a caror functionare se bazeaza pe uscarea

in curent turbionar de aer incalzit (la 200°C) a unei “dispersii” a suspensiei concentrate de alge, realizata prin cultura la scara mare. Imaginea de mai jos reprezinta o astfel de instalatie, utilizata la producerea pulberii de Spirulina in Mexic. Fotografia a fost reprodusa dupa Hills (1981).



În legatură cu condițiile de păstrare îndelungată a biomasei (pudrei) de alge, se impune respectarea unor condiții obligatorii, precum:

- Asigurarea unei umidități maxime de 2-3 % în masă uscată;
- Temperatura mediului ambiant de maxim 12 – 15°C;
- Umiditatea atmosferică în spațiile de păstrare cât mai redusă;
- Evitarea insolației directe la nivelul biomasei algale sau a containerelor (ambalajelor) respective;
- Verificări periodice ale unor parametri ai biomasei algale, în primul rând a umidității materialului și a încărcării microbiene a acestuia (mai ales ciuperci microscopice).

3.6 Factori de risc în cultivarea și valorificarea algelor

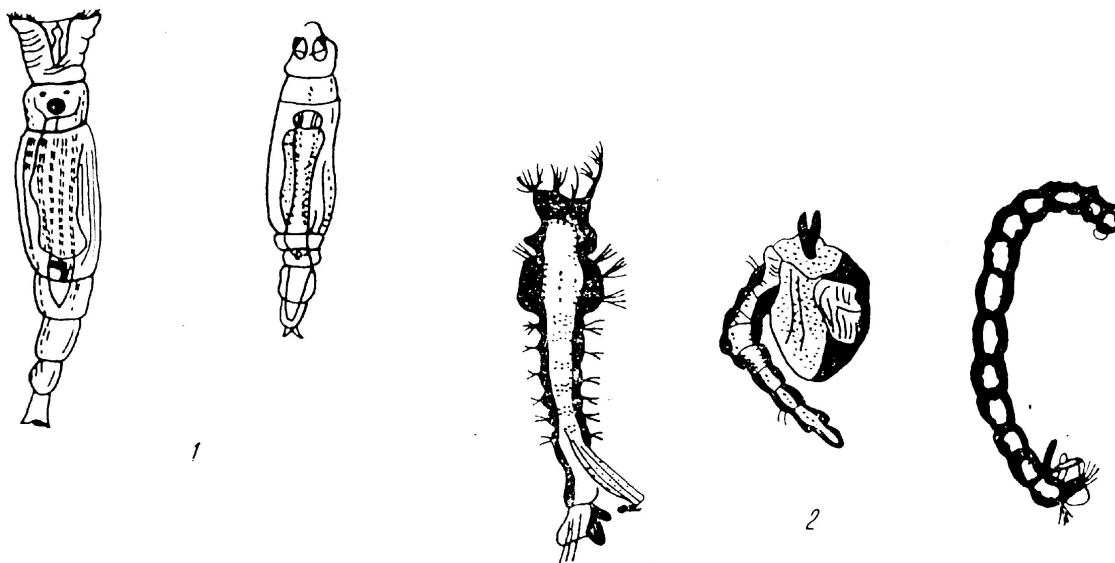
- **Factori de risc bio – tehnologic :**

- Impurificarea culturilor

În cazul utilizării unor instalații pentru cultivarea algelor la scară mare, sub cerul liber, apare în mod implicit eventualitatea infectării mediilor nutritive cu alte organisme. Dintre aceste organisme amintim:

- Alte specii de alge,
- Protozoare
- Rotifere
- Larve de insecte (acvatică)
- Ciuperci microscopice
- Bacterii

Ele pot proveni, în principal, din materiile purtate de curenții de aer, de vânt, pot fi aduse de către apele de precipitație care patrund în bazinele de cultură, pot proveni uneori din apa folosită pentru mediile nutritive sau chiar din culturile utilizate ca inocul dacă acestea nu au fost purificate suficient, anterior.



“Oaspeti” – nevertebrate – ai culturilor de *Chlorella*
(1 – rotifere; 2 - larve de culicide)

Prezența în mediile nutritive a unor organisme străine poate determina – la nivele mai ridicate de dezvoltare a acestora – efecte cu totul nefavorabile în raport cu scopurile activității de cultivare a algelor, prin:

Apariția în mediu a unor concurenți în raport cu resursele limitate de nutrienți;

Eliminarea în mediu – de către “oaspetii nepoftiți” – a unor produși extracelulari sau metabolici daunatori pentru creșterea normală a algei;

Modificarea, la final, a compoziției chimice a biomasei obținute, prin influențarea acesteia de către proprietățile organismelor “invadatoare”, etc.

Mentionăm numai câteva exemple din practica producerii experimentale de biomasă algală prin culturi exterioare (în bazine deschise) la Stațiunea de Cercetări “Stejarul”.

Astfel, în bazinele în care s-au cultivat specii ale genului *Scenedesmus* a apărut o populație de *Chlorella vulgaris* (ale cărei cerințe nutritive sunt apropiate de cele ale multor specii din genul *Scenedesmus*, și care prezintă o rată superioară de diviziune).

Într-o altă variantă de cultivare, în mediu au apărut unele protozoare, dintre care s-a identificat genul *Vorticella*.

În culturile de *Spirulina platensis* a apărut o specie de *Chlorella* adaptată la concentrația mare a mediului nutritiv și la pH-ul ridicat al soluției; ocazional, a fost determinată și o invazie temporară a unei populații de *Haematococcus pluvialis*, alga ale cărei

forme de rezistentă au fost probabil introduse în bazine odată cu apa de precipitație. Într-un mic bazin a fost constatată apariția în cultura de *Spirulina* a unei alte cianoficee – o alga aparținând unui gen înrudit – *Oscillatoria*, provenind probabil din apa de alimentare a bazinului, asigurată de un izvor natural din apropierea platformei de creștere a algelor.

- Utilizarea unor medii improprii (subst.degradate etc)

Un astfel de risc poate apărea atunci când se folosesc pentru realizarea mediilor nutritive substanțe chimice alterate printr-o păstrare neconformă cu cerințele tehnologice, sau alte ingrediente improprii.

Astfel, în condițiile urmăririi reducerii cheltuielilor de producție, poate apărea tentația utilizării în loc de substanțe chimice cu caracteristici strict conforme cerințelor nutriționale ale algei (sau, după caz, a macrofitei) cultivate, a unor “înlocuitori”, de tipul unor ape minerale (ca surse de potasiu, de dioxid de carbon etc); în acest caz, pe lângă nutrienții necesari, în mediul de creștere pot apărea substanțe străine care fie afectează metabolismul plantelor cultivate în bazine, fie se acumulează în biomasa produsă, constituind un potențial pericol pentru utilizatori.

Un alt risc rezultă din utilizarea unor substanțe care, în timp, își pot modifica parțial proprietățile. Astfel, prin păstrarea în ambalaje (recipiente) prost închise, substanțele se pot impurifica prin depunerile de praf; substanțele higroscopice pot atrage cantități mari de apă. Alte substanțe (de exemplu – bicarbonatul de sodiu), prin expunerea la temperaturi ridicate, se pot descompune, schimbându-și semnificativ compoziția, chiar modificându-și proprietățile nutritive.

Similar, introducerea în mediile nutritive, din rațiuni de “optimizare economică” a unor ape uzate (din zootehnie sau de alte proveniențe) poate determina anumite schimbări în compoziția chimică a produsului final și, în consecință, limitarea utilizării acestuia.

- Utilizarea unor surse de apă improprii

Pentru realizarea mediilor nutritive, sau pentru efectuarea operațiunilor de procesare a biomasei obținute prin tehnologii de acvacultură vegetală, este strict necesară utilizarea unor surse de apă de calitate, chiar dacă aceasta înseamnă - uneori – o anumită creștere a prețurilor de producție.

În cazul în care nu se dispune de apă cu calitățile celei potabile, este indispensabilă cunoașterea cu precizie a caracteristicilor chimice ale apei disponibile.

În mod cu totul special este necesară investigarea prezentei/absentei unor substanțe potențial toxice sau periculoase, precum metalele grele, pesticidele, izotopii radioactivi etc. Este bine cunoscută capacitatea multor specii de plante – micro- sau macrofite – de a acumula cantități mari ale unor substanțe toxice, chiar dacă acestea se găsesc în mediu în concentrații foarte reduse.

- Acumularea în biomasă a unor noxe

După cum se cunoaște, majoritatea organismelor vegetale au proprietatea de a asimila o serie de substanțe din mediul înconjurător. Între acestea, pe primul loc se află, evident, substanțele nutritive (nutrienții) de bază și micronutrienții. Alături de ele se găsesc, însă, și multe alte substanțe al căror eventual rol în metabolismul celulei vegetale nu este cunoscut.

Printre acestea se numara si majoritatea metalelor grele (Cu, Cd, Zn, Pb, V, Ni, Ag, Au), unii izotopi radioactivi (ai uraniului, strontiului, cesiului, iodului, etc), si – nu in ultimul rand – multe dintre pesticidele care au trecut din agroecosisteme in marile circuite ale biosferei.

Este remarcabila proprietatea majoritatii organismelor vegetale (micro- sau macrofite) de a concentra asemenea substante din mediul inconjurator, situatie care mareste riscul in cazul unor utilizari specifice ale biomasei.

Proprietatea plantelor de a concentra si a acumula in organismul lor cantitati importante din unele elemente poate fi apreciata drept premiza pentru dezvoltarea in viitor a unor biotehnologii specifice de acvacultura, cu scopul bioacumulării unor metale rare din minereuri sărace sau din imensele halde de steril rezultate din diferite exploatari miniere, in deosebi din zone vulcanice. Prin introducerea in bazinele de cultura a sterilului s-ar putea ajunge la concentrarea in biomasa vegetala a unor cantitati importante de nichel, argint, aur, zirconiu, staniu, vanadiu, molibden, beriliu, litiu etc., care ar fi ulterior separate prin tehnologii specifice.

- *Alterarea/deprecierea biomasei prin prelucrarea neadecvata (uscarea prea lenta, la temperatura prea mare, etc)*

Dupa recoltarea biomasei vegetale din instalatiile de cultura este necesara - in vederea pastrarii si folosirii ulterioare a acesteia – **uscarea** rapida a produsului.

Uscarea este o operatie tehnologica destul de pretentioasa, care trebuie sa indeplineasca doua conditii importante:

- Sa fie de scurta durata, pentru a se preveni posibilitatea alterarii bacteriene a biomasei;
- Sa fie realizata la temperaturi care sa nu pericliteze calitatea biomasei obtinute prin cultura; se stie ca, la temperaturi prea ridicate multi constitienti chimici ai biomasei vegetale (printre care proteinele, vitaminele) pot fi degradati, ceea ce afecteaza negativ valoarea de intrebuintare a produsului final.

Ca atare, se impune folosirea unor instalatii de mare randament, precum **atomizoarele** utilizate de majoritatea fabricilor de faina de alge, sau a unor echipamente ce realizeaza un anumit nivel de vid – favorabil pentru accelerarea uscarii. Se pot folosi si echipamente mai simple, care combina incalzirea biomasei cu producerea unui curent unidirectional de aer, prin care se indeparteaza rapid si continuu vaporii de apa degajati din biomasa.

In conditiile unor zone cu climat cald, rezultate bune se pot obtine prin construirea unor **instalatii solare de uscarea** a biomasei eventual prevazute cu curent de aer pentru antrenarea vaporilor de apa.

Facem precizarea ca in cazul aparitiei unor semne cat de mici de incepere a alterarii biomasei pe procesul uscarii (datorita unor defectiuni tehnice sau a unor erori de exploatare), se impune analiza chimica si microbiologica a produsului, sau, mai curand, renuntarea la sarja respectiva. Totodata, este necesara, de regula, igienizarea atenta a instalatiilor de uscarea dupa un astfel de incident.

- *Alterarea prin pastrarea in conditii improprii*

O alta sursa de factori de risc se refera la modificarea unor proprietati fizice, chimice sau biologice ale biomasei vegetale obtinute prin culturi in urma pastrarii acestora in conditii neadecvate sau pe perioade de timp prea indelungate.

- **Factori de risc managerial**

- *Nerespectarea tehnologiilor de crestere*

Izvorata din eventuala tendinta de reducere a pretului de cost al produsului final, nerespectarea tehnologiilor de acvacultura poate insemna, printre altele:

folosirea unor medii nutritive simplificate, din care pot lipsi componente considerate “prea scumpe” sau “dispensabile”;

utilizarea prea indelungata a unor medii de crestere, peste capacitatea lor de suport trofic, eventual asociata cu suplimentarea $\pm$ empirica a unor nutrienti, probabil dintre cei mai ieftini; in aceasta situatie nu se tine seama de posibilitatea ca mediul nutritiv epuizat sa contina si unii produse de metabolism ai culturilor anterioare, care sa inhibe dezvoltarea ulterioara normala a populatiilor algale;

reducerea functionarii sistemelor de agitare/barbotare a suspensiei, in legatura cu economia de energie electrica;

amanarea repararii/intretinerii copertinelor din folie de polietilena sau a acoperisurilor din sticla construite pentru protectia culturilor fata de precipitatiile atmosferice sau pentru ameliorarea/stabilitatea conditiilor termice din spatiile de cultivare;

nerespectarea momentului optim de recoltare partiala a biomasei algale, din dorinta de a obtine deodata o cantitate mai mare de produs etc.

- *Nerespectarea tehnologiilor de recoltare*

Si recoltarea biomasei algale reprezinta un proces tehnologic destul de pretentios, important pentru derularea normala a acvaculturii. Din ratiuni “economice” gresite, sau din instruirea tehnica insuficienta a personalului de specialitate, pot decurge unele erori, precum:

recoltarea prea timpurie sau intarziata a biomasei din instalatiile de cultivare; in ambele situatii se produce, per ansamblu, diminuarea productivitatii culturilor algale;

recoltarea partiala prea “zeloasa” a biomasei algale din instalatii, ceea ce determina ramanerea in mediile nutritive a unor cantitati mai mici de inocul pentru urmatoarea serie de cultura;

utilizarea unor dispozitive de recoltare singulare, pentru mai multe bazine de cultivare (care pot contine chiar specii diferite de alge), ceea ce duce la impurificarea culturilor etc;

la sfarsitul ultimei serii de recoltare a biomasei dintr-un bazin, se va proceda la colectarea pe cat posibil a intregii biomase algale, dupa care, indepartand mediul nutritiv epuizat, ramas, se va efectua o spalare atenta a bazinului/instalatiei, urmata de dezinfectare.

- *Nerespectarea tehnologiilor de prelucrare*

Aceasta etapa finala a acvaculturii microfitelor prezinta o insemnatate deosebita, si, in acelasi timp, un moment foarte pretentios in raport cu valorificarea produsului final.

Principalele surse de eroare tehnologica consta in:

spalarea insuficienta a biomasei recoltate : in acest caz, in biomasa algala raman saruri din mediul nutritiv sau chiar unii produse extracelulari acumulati in acesta pe parcursul cultivarii, ceea ce depreciaza semnificativ calitatea produsului final;

uscarea biomasei la temperaturi prea ridicate;

introducerea in operatiunea de uscare a unor cantitati prea mari de biomasa deodata: in aceasta situatie uscarea dureaza prea mult si biomasa algala se poate altera ireversibil;

uscarea insuficienta: in caz ca umezeala ramasa in biomasa depaseste valori de 5 – 8 %, pe parcursul pastrarii acesteia pot apare procese de alterare, se pot instala mucegaiuri etc., care depreciaza grav biomasa;

in fine, granulara/pulverizarea masei uscate trebuie sa respecte dimensiunile de particula stabilite pentru fiecare sortiment, in caz contrar putandu-se reduce sansele de desfacere la beneficiar.

- **Factori de risc ce tin de contextul socio-economic**

- *Pretul de productie/livrare*

Una dintre problemele de o importanta practica deosebita in acvacultura, in general, si in cresterea dirijata a organismelor vegetale, in special, este aceea a pretului. Stabilirea pretului trebuie sa tina seama, printre altele, de:

A/ elemente interne

Cheltuielile de investitii si modul lor de recuperare;
Cheltuielile de productie;
Cheltuielile de procesare.

B/ elemente externe

Preturile stabilite de concurenta
Cererea efectiva a pietii fata de produsul finit

In functie de aceste elemente esentiale, si mai putin in functie de dorintele de castig imediat ale intreprinzatorului, trebuie stabilit un pret acceptabil.

Pe de alta parte, in conditiile specifice perioadei de “tranzitie” din tara noastra, nivelul preturilor – de productie si de livrare – poate fi influentat semnificativ de procesele de inflatie, de devalorizarea monedei nationale, de oscilatiile – adesea imprevizibile – ale preturilor unor materii prime, ale unor servicii etc.

Totodata, oscilatiile cererii pietii, in conditiile deteriorarii situatiei economice a multor “agenti economici” si a scaderii puterii de cumparare a populatiei poate determina fie prabusiri ale preturilor de vanzare, fie chiar aparitia unor stocuri de produs nevandabil (sau cu miscare lenta) factori de risc cu impact major asupra eficientei economice a acestei activitati.

Pentru informare, prezentam cateva date relativ recente referitoare la pretul de cost al biomasei unor alge crescute in sisteme industriale (dupa Tseng si Borowitzka, 2003).

Alga	Cost de productie estimat (\$ US / kg subst.uscata)	Sistem de productie
Spirulina platensis	8 - 12	Canale de 0,5 ha fiecare
Chlorella spp.	15 - 18	Bazine sub cerul liber
Dunaliella salina	10	Extensiv, bazine de 250 ha
Haematococcus pluvialis	Peste 40	Reactoare inchise sau bazine
Alge pentru acvacultura (Tetraselmis, Skeletonema..)	60-1000	Recipiente din plastic (tip sac)
Cryptocodinium cohnii	2	Fermentatoare, crestere heterotrofa/glucoza

- *Legislatia*

Marile lacune in legislatia perioadei de “tranzitie”, impreciziile unor acte legislative, insuficienta (pana in prezent) sprijinire pe plan legislativ (inclusiv referitor la fiscalitate) a intreprinderilor mici si mijlocii dar, mai ales, relativ frecventa modificare a multor prevederi legale reprezinta tot atatia factori de risc cu impact major asupra activitatii de acvacultura.

Pentru eventualele utilizari medicinale ale biomasei vegetale produse prin tehnici de acvacultura este necesara si respectarea prevederilor legale, deosebit de stricte, referitoare la aprobarea si controlul medicamentului.

In cazul producerii unor cantitati de biomasa destinata exportului, este indispensabila nu numai cunoasterea si respectarea legislatiei comerciale aferente, dar si a legislatiei din tara de destinatie a produsului (produselor) in ceea ce priveste calitatea, termenii de garantie, modul de ambalare si pastrare etc.

- *Necunoasterea precisa a cererii pietii si a ofertei concurentei*

Evident, o cunoastere insuficienta a cererii reale a pietii fata de produsele acvaculturii organismelor vegetale poate reprezenta un factor de risc major pe planul valorificarii productiei; de asemenea, o prognoza superficiala, insuficient fundamentata, asupra cerintelor probabile ale pietii pe termen scurt sau mediu poate determina pierderi economice majore, aparitia unor stocuri cu miscare lenta sau chiar greu vandabile, eventual aparitia unor perisabilitati mari la produsele finite nevandute.

Un aspect extrem de important il constituie supravegherea continua a ofertei similare a concurentei, analizandu-se calitatea produselor, pretul, modul de sustinere a publicitatii produsului/produselor, “priza” acestuia la publicul consumator etc.

4. Studiu de caz : *Spirulina* – proprietati, cultivare, utilizari

Date generale

Din punct de vedere taxonomic *Spirulina* are urmatoarea situare (cf. R.D.Fox, 1999) :

Regnul :	Monera
Subregnul :	Prokaryota
Incengatura :	Cyanophyta
Clasa :	Cyanophyceae
Ordinul :	Nostocales
Familia :	Oscillatoriaceae
Genul :	Spirulina

Specia cea mai cunoscuta si introdusa in cultura este *Spirulina platensis*.

Aceasta specie se prezinta sub forma unor filamente spiralate, de obicei cu lungimi de 200 – 300 micrometri.

Imagini (microfotografii) ale acestui organism sunt prezentate in prezentul suport de curs la paginile 22 si 92. ...

Spirulina platensis este un organism care prefera apele cu caracteristici chimice speciale, in primul rand bogate in bicarbonati, saruri de sodiu etc. Este o specie termofila, ceea ce face ca alga sa traiasca in mod natural in principal in zone tropicale sau subtropicale.

Din datele existente privind raspandirea naturala a speciei (R.D.Fox, 1999) rezulta o arie destul de cuprinzatoare; *Spirulina platensis* a fost identificata in Africa (Algeria, Ciad, Sudan, Djibouti, Etiopia, Congo, Kenya, Tanzania, Tunisia, Zambia, Madagascar), in Asia (India, Myanmar, Sri Lanka, Pakistan, Tailanda, Azerbaidjan), in America de Sud (Peru, Uruguay, Ecuador), America de Nord (Mexic, California, Haiti, Republica Dominicana), Europa (Ungaria, Franta). Cercetarile efectuate au pus in evidenta prezenta acestei alge si in Romania; *S.platensis* a fost identificata in lacul termal Petea/Oradea, in bazine piscicole de la Cefa si Homorog (Bihor), in ape salmastre de la Radvani (jud. Bihor)...., in lacul Caldarusani/Ilfov, in orezariile de la Chirnogi/Ilfov, in complexul de lacuri Crapina-Jijila din nordul Dobrogei si in Delta Dunarii (Caraus, 2002).

Date privind compozitia chimica a Spirulinei sunt prezentate in capitolul 2.4 al prezentului suport de curs.

Cultivare, prelucrare

Pentru **cultivarea Spirulinei** trebuie sa fie luate in considerare urmatoarele aspecte:

- alegerea mediilor nutritive adecvate;
- instalatii de cultura de laborator si pentru cultura in masa;
- procedee de recoltare a biomasei;
- procedee de prelucrare a acesteia;
- calculul preturilor de cost si identificarea posibilitatilor de reducere a acestuia.

Mai multe informatii despre procedeele de crestere dirijata a Spirulinei sunt cuprinse in capitolele 3.2 si 3.3 ale prezentului suport de curs.

In afara de utilizarea biomasei de Spirulina, asa cum este obtinuta din culturi industriale, s-a investigat posibilitatea de a adauga compozitiei obisnuite a acestei alge unele ingrediente care pot interveni cu bune efecte in diferite maladii umane.

Astfel, prin introducerea in mediul nutritiv a unor anumite substante (compusi ai fierului sau ai cuprului) s-a putut determina o crestere semnificativa a cantitatii de ficocianina din biomasa alga.

In urma introducerii in mediul nutritiv a unor cantitati de ioni de nichel, zinc si de cobalt (sub forma de saruri complexe), s-a obtinut cresterea cantitatii de vitamina B₁₂ (cianocobalamina) din biomasa de Spirulina.

A fost obtinuta si o varianta de biomasa de Spirulina cu continut sporit de seleniu, microelement deosebit de important pentru dezvoltarea normala a organismelor animale. El activeaza procesele de respiratie tisulara, regleaza viteza reactiilor de oxidoreducere, stimuleaza metabolismul proteic, in deosebi a aminoacizilor care contin sulf, si intervine in mecanismele imunitare ale organismului. Exista opinii conform carora seleniul are si proprietati anticancerigene (Rudic et al., 1995).

O alta directie de lucru a vizat obtinerea unor biopreparate de Spirulina cu continut ridicat de iod (legat organic), utile pentru sintetizarea in organismul animal a unor cantitati mai mari de tiroxina; rezultatele cele mai bune s-au obtinut prin introducerea in mediile de crestere a iodurii de cobalt (CoI₂.6H₂O).

Principalele utilizari ale biomasei de *Spirulina*

- Supliment alimentar de uz uman

O prima directie de folosire a biomasei de Spirulina a plecat de la cunoscuta deja folosire a sa in alimentatia umana de catre populatiile indigene din zona lacului Ciad si a lacului Texcoco din Mexic, cat si de la rezultatele analizelor biochimice asupra compozitiei biomasei acestei alge.

S-au efectuat experiente in mai multe tari, printre care in India, in Peru etc.

Au fost urmarite :

- acceptabilitatea biomasei in hrana, tinand seama de culoarea, mirosul si gustul oarecum neconventionale ale acestei biomase; in linii mari s-a constatat ca aceste neajunsuri pot fi depasite, mai ales prin adaugarea unor ingrediente, condimente etc;
- stabilirea unor ratii zilnice corespunzatoare;
- efectele biologice ale consumului de biomasa, atat la loturi de copii, cat si la adulti

S-a stabilit ca biomasa de Spirulina poate fi utilizata cu efecte deosebit de pozitive in cazuri de anemie, in deosebi in cazul copiilor subnutriti. Pentru adulti, FAO a stabilit o ratie zilnica de proteina pura de 35 grame; aceasta norma poate fi satisfacuta prin consumul a 6 linguri (~ 60 grame) de biomasa uscata de Spirulina. Un avantaj special al Spirulinei consta in prezenta in biomasa a unor concentratii ridicate de **lizina** si de **metionina**, valori mult superioare fata de continutul celor doi aminoacizi din alte alimente de origina vegetala.

- Ingredient in furajarea animalelor (gaini, porci, vaci, pesti, viermi de matase)

S-a incercat utilizarea biomasei de Spirulina ca adaus in hrana conventionala a diferitelor animale utile. Cercetarile au fost efectuate pe loturi de gaini, porci, vaci, pesti, viermi de matase etc.

Rezultatele au fost in general pozitive; cele mai interesante rezultate au fost obtinute in cazul introducerii acestui supliment in furajele destinate gainilor ouatoare – prin ameliorarea simtitoare a culorii galbenusului, si chiar prin marirea productiei de oua.

Problema care ramane insa in aplicarea rezultatelor cercetarilor este aceea a caracterului prohibitiv al pretului de cost al biomasei de Spirulina: nu este deloc rentabil a introduce aceasta biomasa in furajul folosit pentru productia zootehnica la scara mare, caci ar creste semnificativ costurile.

- Utilizari farmaceutice

Probabil ca acest tip de utilizare a biomasei de Spirulina prezinta cele mai mari perspective. Motivarea acestei aprecieri este aceea ca, in aceasta folosinta, pretul de cost al biomasei nu mai prezinta o importanta hotaratoare in raport cu efectele medicale pozitive.

Dintre cercetarile efectuate amintim unele dintre rezultatele cercetarilor medicilor din Japonia.

Prin administrarea de Spirulina s-au obtinut efecte remarcabile in cazul unora dintre bolile larg raspandite in lumea de astazi, precum diabetul, hepatita, ciroza hepatica. Rezultate bune s-au obtinut si in raport cu gastroenterite, pancreatite cronice, in diferite forme de ulcer.

S-a constatat ca pot apare efecte pozitive si in anumite afectiuni ale ochilor, precum cataracta, glaucomul etc.

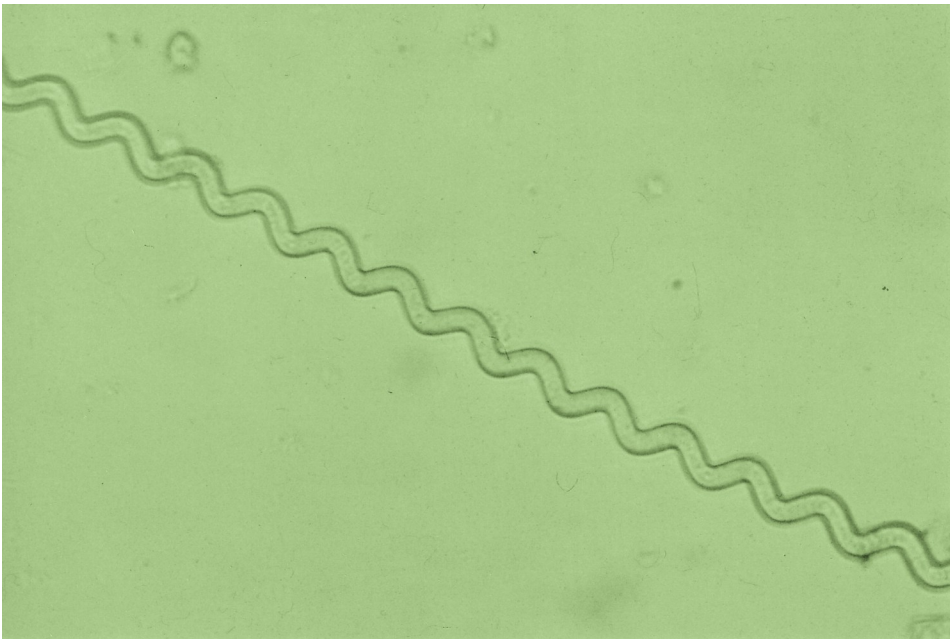
Efecte pozitive ale utilizarii Spirulinei s-au inregistrat si in tratarea diabetului, in corectarea functionarii sistemului endocrin, in prevenirea si tratarea unor boli psihice (depresii, schizofrenie), in vindecarea ranilor etc.

Directii posibile de dezvoltare ulterioara a cultivarii *Spirulinei*

Deși cultivarea acestei alge a depășit faza pregătitoare – respectiv investigațiile de laborator – trecându-se pe scară largă la producția industrială și comercializarea biomasei, se poate aprecia că anumite ameliorări/progrese în domeniu sunt încă posibile.

Printre direcțiile principale de dezvoltare/optimizare a domeniului, putem întrevedea:

- perfecționarea compoziției mediilor nutritive utilizate pentru creșterea industrială a algei, în vederea reducerii preturilor de cost;
- elaborarea unor procedee de reglare automată a principalilor parametri ai mediului de creștere – în primul rând temperatura, regimul de lumină, dinamica mediului de cultură, admisia de CO₂, pH-ul, compoziția chimică, respectiv concentrația nutrienților majori etc;
- perfecționarea procedeeelor de prelucrare a biomasei (pentru îndepărtarea surplusului de nutrienți, uscarea în bune condiții etc);
- modificarea fondului genetic al algei pentru sporirea productivității culturilor și pentru ameliorarea calității biomasei;
- investigarea proprietăților și a posibilităților de introducere în cultură a unor noi specii ale genului *Spirulina*, în deosebi dintre speciile tipice zonelor temperate, adaptate unor condiții de temperatură mai puțin pretentioase (în imaginea de mai jos, prezentăm una dintre speciile de *Spirulina* întâlnite frecvent în zone umede din România – *Spirulina jenneri*). Menționăm că numai în algoflora României au fost identificate până în prezent 25 specii ale genului *Spirulina* (Caraus, 2002).



5. Perspective ale dezvoltării acvaculturii pentru producerea și valorificarea biomasei vegetale

5.1 Directii de dezvoltare a algoculturii

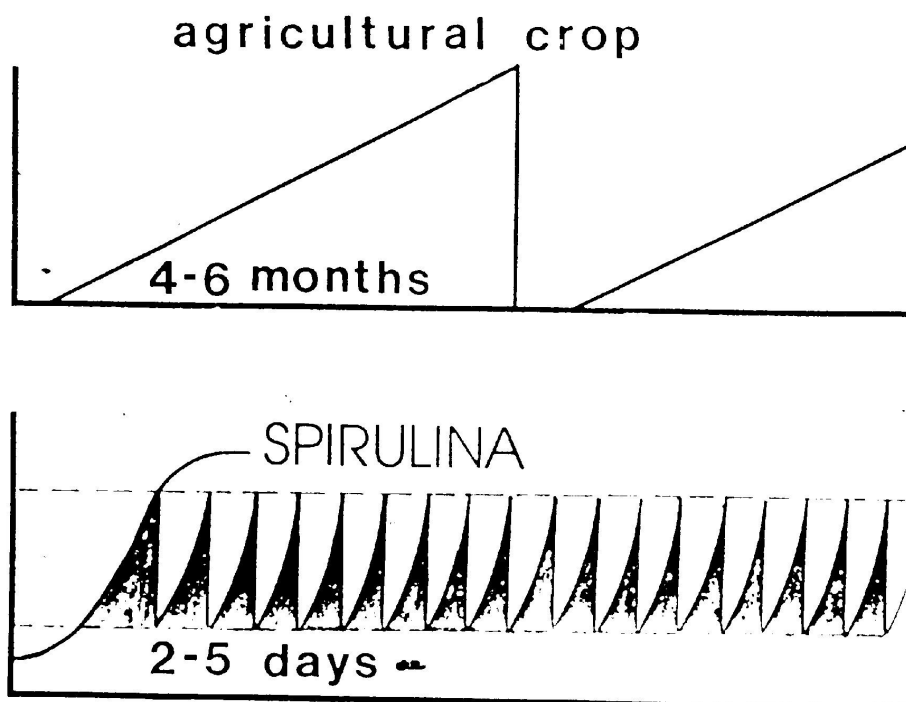
Principalele directii de dezvoltare a creșterii dirijate a algelor micro- și macrofite vor fi determinate de cerințele tot mai presante din partea societății umane, în condițiile în care, chiar în prezent, începe să se manifeste o criză - crescândă, de altfel, a disponibilității unor resurse majore.

La ora actuală, liniile previzibile pe care va evolua acvacultura organismelor vegetale pot fi considerate următoarele.

- **Producerea de materii prime utilizabile în alimentația umană;**

După cum s-a menționat mai sus, compoziția chimică a biomasei vegetale - în deosebi a celei produse prin cultură intensivă a microalgelor - argumentează extinderea preocupărilor pentru dezvoltarea utilizării alimentare a acesteia.

Unul dintre argumentele suplimentare, majore, în acest sens îl reprezintă și faptul că, în timp ce producția agricolă clasică a agroecosistemelor terestre este recoltată integral după câteva luni de cultivare, biomasa algală obținută în sisteme industriale de acvacultură se poate recolta o dată la câteva zile, timp în care spirulinele, de pildă, își dublează cantitatea.



Comparatie intre ciclurile de crestere si de recoltare la plantele de cultura terestre si la *Spirulina* (dupa Switzer, 1980)

Aceasta directie de dezvoltare a acvaculturii este cu atat mai necesara, cu cat nevoile alimentare sunt – chiar la inceputul mileniului III – foarte departe de a fi satisfacute, macar la nivele minimale, pentru o parte insemnata a omenirii.

Alaturi de dezvoltarea – prin aplicarea noilor descoperiri ale geneticii – a agriculturii si zootehniei clasice, o solutie majora pentru rezolvarea problemei consta in introducerea in culturi a unor noi organisme. In acest sens, tehnologiile de acvacultura pot oferi perspective extrem de promitatoare, de mare eficienta. Prin dezvoltarea acestora in practica, se va contribui la satisfacerea necesitatilor alimentare, si, totodata, se vor crea locuri noi de munca intr-un domeniu de activitate cu comanda sociala permanenta.

Acum, la inceputul mileniului III, numarul speciilor vegetale din ecosistemele acvatice, care au fost investigate ca potentiali producatori de materii nutritive, este foarte limitat, nedepasind ordinul de marime de 100. Ori, numai algele din apele dulci depasesc, la nivel planetar, cateva zeci de mii; se impune, deci, cu necesitate, investigarea atenta si aprofundata a cat mai multe specii, pentru a le cunoaste compozitia chimica, conditiile de crestere si capacitatile bioproductive.

Odata cu posibila/probabila amplificare a impactului uman asupra biogeosferei, inclusiv prin eliminarea in mediul inconjurator a tot mai multe noxe, in activitatea de productie prin tehnici de acvacultura a unor cantitati tot mai mari de materii alimentare, va fi indispensabil controlul extrem de aprofundat, continuu, al calitatii produsului final.

- **Obtinerea de materiale utilizabile ca suplimente furajere;**

In ciuda tendintei tot mai clar exprimata catre o anumita schimbare a structurii alimentatiei umane, prin amplificarea ponderii alimentelor de origina vegetala, consumul de proteina animala va continua (in limita previzibilului) sa ocupe un loc destul de important. In conditiile in care suprafetele agricole disponibile (de altfel strict limitate) vor fi cultivate predominant cu culturi destinate prioritar consumului uman direct, pentru sustinerea zootehniei (inclusiv a cresterii in acvacultura a unor organisme animale de interes alimentar) va fi necesara identificarea si valorificarea altor resurse furajere.

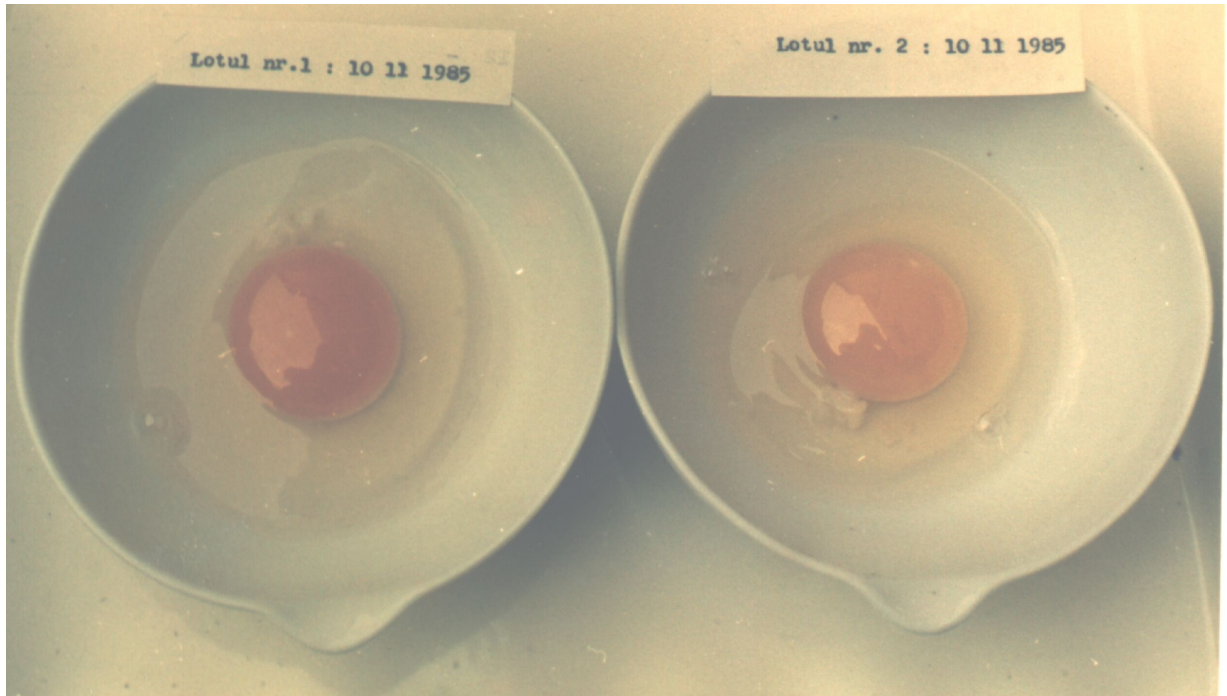
Una dintre acestea poate fi oferita de cultivarea dirijata a unor alge micro- si macrofite in sisteme tehnologice de mare randament. Rezultatele obtinute pana in prezent constituie premise temeinice pentru dezvoltarea unor astfel de directii de acvacultura.

In cazul algelor monocelulare, cantitatile de biomasa nu sunt la fel de impresionante, dar, prin compozitia chimica specifica, furajele obtinute sunt deosebit de valoroase, avand calitati nutritive foarte ridicate. Din acest motiv, biomasa algala nu este de regula folosita, in integralitatea sa, ca furaj, ci este utilizata de regula ca **supliment** furajer, ce asigura completarea necesarului de proteine, de vitamine, de minerale etc.

In cadrul unui program de cercetare desfasurat la o unitate de productie de la SC AVICOLA Piatra Neamt, s-a experimentat utilizarea unui mic adaus (sub 5 %) de pudra de *Spirulina* in furajul standard folosit pentru hrana gainilor ouatoare. Rezultatul a fost peste asteptari: productia de oua s-a marit cu cca 15 %, iar imbunatatirea calitatii acestora s-a vadit in

schimbarea culorii galbenusului – de la un galben palid catre un galben foarte intens, apropiat de portocaliu.

In imaginea de mai jos sunt prezentate : “Lotul nr.1” – de la gaini hranite cu furaj suplimentat cu Spirulina; ”Lotul nr. 2” de la gaini hranite cu furaj standard.



Si in acest domeniu de dezvoltare a acvaculturii vegetale se impun studii aprofundate pentru **extinderea gamei de specii** cu proprietati nutritive si de crestere adecvate nevoilor zootehniei.

- **Separarea unor principii active utilizabile pentru tratamente naturiste;**

Dupa cum se cunoaste, preocuparile generalizate pentru afirmarea si aplicarea in practica a principiilor “medicinii naturiste” s-au dezvoltat in Europa numai in ultimele decenii. Pe aceasta linie se situeaza cresterea semnificativa a atentiei acordate identificarii, adaptarii si chiar generalizarii unor remedii bazate pe utilizarea plantelor medicinale, remedii care, de altfel erau cunoscute in popor de sute si chiar mii de ani. Asistam actualmente la proliferarea unei adevarate “mode” in ceea ce priveste interesul pentru folosirea reala a acestor tratamente, care reprezinta o adevarata alternativa la utilizarea produselor de sinteza. Desigur ca nu ne putem astepta ca “farmacia verde” sa ofere solutii eficiente pentru totalitatea bolilor cu care se confrunta omul modern, dar, realitatea arata ca multe dintre remediile de natura vegetala ofera cu adevarat posibilitati de tratament eficiente in multe afectiuni, fara insa ca acestea sa fie dublate de efecte secundare – adesea nocive – caracteristice multor medicamente de sinteza.

Iata de ce, in atentia cercetatorilor a intrat si preocuparea de a investiga posibilitatile de utilizare a unor plante acvatice (micro- si macrofite) drept surse de sanatate pentru om.

Se cunoaste mai de mult timp, in urma unor cercetari cu specific ecologic, proprietatea unor alge de a produce **substante biologice active**, cu ajutorul carora populatiile respective indeparteaza din habitatul lor alte organisme – plante sau animale, ceea ce le asigura sanse superioare de supravietuire si proliferare.

Mentionam asa numita “chlorellina”, ori “scenedesmina”, compusi organici ce prezinta efecte inhibitoare asupra altor alge sau chiar asupra unor organisme animale (protozoare, etc.). Se cunosc in parte si proprietatile toxice ale unor compusi continuti de unele alge albastre care produc “infloriri” ale apei, precum *Microcystis aeruginosa*, etc. Toate acestea reprezinta in fapt substante biologice active care pot interesa din punctul de vedere al utilizarii lor terapeutice.

Luand in considerare, printre altele, si pretul relativ ridicat al biomasei de *Spirulina*, care limiteaza utilizarea sa larga, curenta, drept aliment pentru oameni, au fost investigate destul de aprofundate posibilitatile de a o utiliza ca medicament in diferite domenii ale teraputicii. S-a constatat ca biomasa acestei specii (*S.platensis*) poate determina ameliorari importante in anemie, in boli ale ficatului (hepatita, ciroza), in diabet, afectiuni ale pancreasului, chiat in anumite afectiuni oculare (glaucom) etc. Ca urmare, biomasa acestei alge se foloseste deja in prepararea unor medicamente “naturiste” destul de cautate.

Amintim cercetarile efectuate la Institutul de Microbiologie al Academiei de Stiinte din Republica Moldova (Dudnicenco, 2001), prin care s-au pus bazele stiintifice ale tehnologiilor de productie a biomasei de *Haematococcus pluvialis* Flotow, in vederea obtinerii unor substante utile de interes farmaceutic – si anume **beta-carotenul** si **astaxantina**. In cadrul programului de lucru s-a gasit solutia biotehnologica pentru reducerea duratei cultivarii algei, de la 12-14 zile, la numai 7 zile, odata cu cresterea productivitatii culturilor.

Numeroase colective de cercetare s-au ocupat de biologia si tehnicile de cultivare ale unor specii de *Dunaliella* (in deosebi *D.salina*), in vederea obtinerii de biomasa utilizabila pentru extragerea **beta-carotenului** si a **glicerolului**.

Este insa important de aratat ca nivelul de cunoastere a proprietatilor terapeutice al algelor – si a plantelor acvatice in general – este totusi, in prezent, foarte limitat, redus, fiind total insuficient in raport cu diversitatea specifica foarte accentuata a acestor organisme. Pe baza celor cunoscute pana in prezent se poate afirma ca lumea vegetala din apele continentale sau cele marine/oceanice poate oferi surse extrem de valoroase de produse utilizabile in terapeutica umana. Identificarea lor, cat si elaborarea tehnologiilor de acvacultura a speciilor respective, de prelucrare si extragere a principiilor active, ramane o sarcina a viitoarelor generatii de cercetatori.

- **Productia unor surse alternative, neconventionale de energie;**

Dupa cum se cunoaste, in evolutia sa istorica, omenirea a manifestat o nevoie crescanda de energie - incepand cu cea necesara pentru incalzirea spatiilor de locuit, cu cea folosita pentru prepararea hranei, si continuand cu cea utilizata pentru transporturi, pentru iluminat, pentru diferitele procese industriale, etc.

In general, principalele tipuri surse de energie primara (in sens larg) utilizate de-a lungul timpurilor de catre omenire pot fi considerate urmatoarele:

- Energia chimica acumulata de vegetale, ca productie primara neta (utilizata ca hrana, direct de catre om, sau ca mijloc de incalzire – prin arderea lemnului);
- Energia animala - utilizata ca hrana, direct de catre om, sau pentru actionarea unor mijloace de locomotie;
- Propria forta fizica a omului – utilizata nu numai pentru nevoile organismului uman insasi (deplasare, cautarea si procurarea hranei etc), dar si pentru transportul unor materiale, pentru lucrari de construire a unor adaposturi etc;
- Energia vantului – utilizata pentru actionarea unor mori, pentru deplasarea unor corabii, iar mai nou (dar relativ limitat) – pentru producerea curentului electric;
- Energia gravitationala: actionarea unor mori de apa, ulterior a unor centrale electrice, etc;
- Energia “fosila”, acumulata, tot ca urmare a unei “productii primare nete” din trecutul planetei, in depozitele de carbuni, de petrol sau de gaze naturale;
- Energia geotermica - utilizata in principal pentru sisteme de incalzire a locuintelor, a unor sere si a altor spatii;
- Energia mareei – utilizata in cateva tari ale lumii pentru producerea de curent electric;
- In fine, energia atomica a capatat – din secolul al XX-lea, o pondere tot mai mare in acoperirea necesitatilor omenirii.

Desigur ca sursele de energie primara mentionate mai sus au avut ponderi foarte diferite in asigurarea necesarului energetic al omenirii. Ponderea cea mai mare a avut-o – si inca o mai are – energia chimica acumulata in combustibili fosili, in primul rand in **hidrocarburi**. Din pacate, rezervele de combustibili fosili sunt **limitate (finite)**; cu toate preocuparile de descoperire a unor noi zacaminte, inclusiv in zone ale scoartei terestre situate sub mari/oceane, evaluarile specialistilor indica probabilitatea epuizarii intr-un viitor, nu prea indepartat, a acestor resurse.

Alternativa – reprezentata de energia atomica - desi teoretic constituie o sursa nelimitata de energie, ofera unele dezavantaje sau chiar riscuri majore, care au ridicat problema limitarii sau chiar renuntarii la construirea de noi centrale atomoelectrice (cazul Germaniei). In afara de accidente grave in exploatare – de tipul celui de la Cernobal, din Ucraina (1986) – care au totusi un caracter de exceptie, exploatarea acestor centrale electrice insemna si producerea – inevitabila - a unor cantitati importante de deseuri radioactive, a caror depozitare ridica probleme majore de protectie a mediului.

Mentionam ca una dintre caile cele mai convenabile (ca impact de mediu si ca pret de productie al energiei) de producere a energiei electrice – prin construirea si exploatarea de hidrocentrale – are un caracter limitat: numai o mica parte din cursurile de apa se poate amenaja si exploata in mod economic rentabil.

In aceasta situatie, se pune tot mai acut problema **identificarii si exploatarii unor resurse energetice alternative**.

Dupa cum cunoastem (inclusiv de la cursul privind “Productia si productivitatea primara”, sau de la cel de Ecologie Generala), principala sursa de energie pentru planeta noastra o reprezinta Soarele.

Amintim ca energia solara incidenta pe Terra (asa numita “constanta solara”) are valoarea medie de 1,94 calorii/cm²/minut.

Pe de alta parte, desi randamentul energetic al fotosintezei este in general scazut – sub 2 % din energia incidenta - la scara planetara, cantitatile imense de energie fixata prin fotosinteza depasesc cu mult transformarile de energie care au loc in toate industriile umane, inclusiv in cele care utilizeaza energia atomica.

In aceste conditii devine tot mai atractiva ideea de a utiliza – direct sau indirect – energia solara. Utilizarea directa - la nivelul actual de dezvoltare tehnologica - se bazeaza pe conversia energiei luminoase in energie electrica prin “efectul fotoelectric” al unor baterii solare cu celule generatoare de curent electric (cu seleniu, siliciu etc); preturile fiind inca prohibitive, aceste tehnici se folosesc efectiv pentru alimentarea unor sateliti/statii spatiale.

Utilizarea indirecta a energiei solare se poate realiza prin incalzirea unui agent termic si producerea de curent electric in instalatii speciale. O alta cale o reprezinta acumularea si stocarea energiei chimice in plante, urmata de folosirea acestei energii pe o cale sau alta.

Implicarile previzibile ale acvaculturii in aceasta problema pot fi considerate urmatoarele.

- Dezvoltarea unor culturi de alge pentru producerea hidrogenului;
- Dezvoltarea unor biotehnologii – bazate pe cultivarea algei *Botryococcus braunii* – pentru obtinerea de hidrocarburi (actuale, regenerabile continuu, NU fosile !);
- Tehnologii de obtinere prin procedee de acvacultura a algelor macrofite a unor cantitati mari de biomasa care – prin fermentare anaeroba - poate deveni o sursa importanta de metan.



Botryococcus braunii

- **Acumularea unor elemente rare, cu mare valoare economica;**

Aceasta directie de cercetare aplicativa nu a cunoscut, pana in prezent, o dezvoltare semnificativa; desi sunt in continua crestere, necesitatile omenirii in raport cu metale rare/prezioase sunt inca satisfacute (la costuri tot mai mari, e drept !) de procedeele clasice de exploatare a unor zacaminte minerale. Inca nu a fost abordata in mod sistematic exploatarea unor resurse minerale imense din domeniul oceanic, precum nodulii fero-manganosi de pe fundul oceanelor, sau chiar elementele chimice aflate in cantitati foarte mari (dar la concentratii extrem de mici !) in insasi masa de apa oceanica.

Pe de alta parte, numeroase cercetari referitoare la compozitia chimica a micro- si macrofitelor au pus in evidenta capacitatea uimitoare a multor specii vegetale de a acumula si de a concentra din mediul acvatic inconjurator cantitati importante din diferite elemente chimice importante pentru om.

În afara de exemplele clasice referitoare la concentrarea iodului sau a bromului în biomasa unor specii de alge marine, sunt extrem de interesante datele privind acumularea în celulele unor microalge a unor elemente destul de rare. Dintre acestea din urmă, menționăm numai compoziția minerală a biomasei de *Oscillatoria rubescens* – cianoficee planctonica din ecosistemul lacul de baraj Bicaz.

Trăind într-o apă convențional curată (apreciată, conform normativului românesc pentru apele de suprafață, drept apă aparținând categoriei I-a de calitate), populația acestei alge a acumulat (la o tonă de cenusa):

304 kg. siliciu
172 kg. calciu
129 kg. aluminiu
105 kg. Magneziu
51 kg fier
4 kg titan
1 kg nichel
0,8 kg plumb
0,5 kg zinc
0,3 kg cupru
0,2 kg bor

În cantități mai mici au fost prezente (enumerată în ordinea descrescătoare a ponderii): manganul, cromul, vanadiul, staniul, bismutul, molibdenul, argintul, cobaltul, cadmiul (cf. Grinea et al., 1979).

Este evident că, dacă dintr-un bazin acvatic aproape lipsit de surse de impurificare, cu o apă curată (practic potabilă), această algă a reușit să concentreze asemenea cantități de elemente, în condițiile creșterii pe ape cu grad mare de încărcare s-ar putea obține “producții” mult mai însemnate.

Numeroase date arată că și macrofitele acvatice au capacitatea de a acumula cantități mari de elemente chimice din mediul lor de creștere.

Este evident că, prin creșterea dirijată a plantelor acvatice în bazine care ar conține și anumite cantități de steril (de la exploatarea de minereuri neferoase, de la fosta exploatare de sulf din munții Calimani etc), sau chiar cenuri de termocentrală (care de altfel reprezintă factori majori de degradare a mediului în zonele de amplasare a haldelor respective), ar putea fi acumulate în biomasa vegetală cantități foarte importante de metale rare, prezente în concentrații mici în deșeurile respective. Ulterior, după arderea biomasei, ele ar putea fi separate din cenusa rezultată, prin procedee tehnice specifice.

• **Biotehnologii de epurare avansată a unor ape uzate**

Cercetările efectuate de către colectivul condus de Dr. Marioara Godeanu, cât și cele ale altor specialiști, au arătat că plantele acvatice au capacitatea ridicată de a acumula din mediu cantități mari de substanțe, inclusiv multe substanțe toxice, contribuind astfel în mod semnificativ la purificarea biologică avansată a apelor uzate.

Aceste rezultate constituie premisele pentru dezvoltarea în viitor a unor tehnologii ecologice de înalt randament pentru epurarea apelor uzate. La ora actuală sunt previzibile dezvoltări tehnologice legate de:

- diversificarea gamei de specii vegetale utilizabile în acest scop,

- marirea perioadei de vegetatie a micro- si macrofitelor in instalatiile de purificare biologica avansata,
- modificarea genetica a plantelor utilizate in aceste tehnici de acvacultura pentru marirea eficientei asimilarii/acumularii substantelor nocive,
- identificarea unor noi directii de valorificare a biomasei vegetale rezultate (in afara de fermentarea anaeroba si producerea de gaz metan).

- **Realizarea unor colectii de culturi regionale de alge micro- si macrofite, foarte cuprinzatoare, care sa asigure materialul biologic necesar pentru reconstruirea unor ecosisteme acvatice/zone umede afectate de impactul antropic**

In fine, dar nu in ultimul rand, cresterea dirijata si pastrarea organismelor vegetale acvatice, in cadrul unor colectii de culturi, poate reprezenta o contributie majora la salvarea unei parti din actualul patrimoniu natural al omenirii, supus unei presiuni crescande din partea impactului antropic la nivel local, regional sau chiar planetar.

Este cunoscuta evolutia nefavorabila a biodiversitatii – la nivel general sau la nivelul unor ecosisteme concrete – ca urmare a influentei diferitelor activitati umane. Pentru protectia sau refacerea sa – conditie majora a mentinerii echilibrului biologic – s-au propus/adoptat unele masuri, una dintre tintele vizate fiind **zonele umede** ale planetei (in sens larg).

Pentru refacerea unor ecosisteme acvatice degradate este important a se dispune de surse cuprinzatoare de material biologic de calitate, care sa asigure necesarul in cadrul programelor de reabilitare/reconstructie respective.

In acest scop, realizarea unor colectii de culturi permanente, cuprinzand multe din speciile de plante acvatice din flora unei regiuni sau a alteia, ar putea reprezenta o solutie de perspectiva, adecvata si eficienta.

5.2 Sisteme integrate de acvacultura

O directie importanta de dezvoltare a acvaculturii o constituie asa numitele **sisteme integrate**.

Acestea reprezinta rezultatul cuplarii, intr-un ansamblu functional, coerent, a diferitelor domenii de acvacultura.

Astfel, un sistem integrat de acvacultura poate cuprinde urmatoarele elemente constitutive:

- Sector de crestere intensiva a microalgelor (MI);
- Sector de crestere a macrofitelor (MA);
- Sector de cultivare a unor nevertebrate consumatoare de alge (NV);
- Sector de crestere dirijata a pestilor consumatori de microalge (PA);
- Sector de crestere a pestilor consumatori de macrofite (PM);
- Sector zootehnic “terestru” – ex. porci consumatori de macrofite (TM), etc.

Dupa cum se poate vedea, un astfel de sistem de acvacultura integrata functioneaza in mod similar unui ecosistem natural, in care exista producatori primari, consumatori primari, secundari etc. Oricum, este un sistem mult simplificat, cu o diversitate biologica redusa; stabilitatea si functionarea sa normala sunt conditionate de interventia continua a omului care, in fapt este si “consumatorul final” al sistemului integrat de acvacultura.

5.3 Cai de reducere a pretului de cost al productiei

Aspectul economic al acvaculturii in general, si a cresterii dirijate a micro- si macrofitelor acvatice a fost si reprezinta in continuare un factor limitativ pentru dezvoltarea si extinderea acestei activitati.

Principalele cai actualmente previzibile pentru reducerea pretului de cost al produsului final, pentru a face din acvacultura o activitate rentabila economic pot fi considerate urmatoarele.

- Analiza structurii costurilor de productie si identificarea elementelor care au ponderea cea mai mare in determinarea pretului de cost, cat si a elementelor la care se poate interveni in vederea scaderii costurilor;
- Optimizarea mediilor nutritive, prin introducerea unor nutrienti eficienti si ieftini in acelasi timp, prin sporirea capacitatii de suport a culturilor;
- Ameliorarea sistemului tehnologic de algocultura, pentru cresterea randamentului bioproductiv;
- Sporirea perioadei de timp in care se deruleaza procesele de crestere dirijata a plantelor acvatice, in deosebi in zonele tropicale;
- Utilizarea unor stimulatori de crestere;
- Selectarea unor specii/linii de plante de maxima productivitate; identificarea unor specii/linii de interes din flora locala, deja adaptate conditiilor climatice ale zonei;
- Reducerea la maximum a pierderilor de biomasa la recoltare/procesare;
- Dirijarea biomasei obtinute sau a produselor derivate din aceasta, catre utilizarile cele mai avantajoase din punctul de vedere al preturilor de livrare.
- Identificarea unor noi segmente ale pietei de desfacere, pentru diversificarea cererii fata de produsele finale ale cultivarii dirijate ale unor organisme vegetale acvatice;
- Participarea la sisteme integrate de acvacultura, in deosebi la cele care folosesc direct biomasa vegetala proaspata, fara prelucrarea sa speciala, uscare, etc.

5.4 Factori de risc previzibili

In linii mari, acesti factori de risc au fost prezentati si analizati pe scurt la sectiunea corespunzatoare din prezentul curs.

Luand in considerare dezvoltarea **in perspectiva** a acvaculturii organismelor vegetale trebuie sa tinem seama de evolutie generala - atat a nevoilor omenirii – fata de noi surse de

materii alimentare, furajere, de medicamente sau de energie, cat si dezvoltarea in viitorul apropiat sau mediu, a unor noi tehnologii, de cresterea nivelului tehnologic in ansamblul sau, de sporirea calificarii personalului etc. O importanta speciala va avea dezvoltarea automatizarii industriale, a tehnologiilor de reglare/autoreglare a proceselor, care va oferi un caracter mai sigur, mai continuu, proceselor de cultivare dirijata, reducand totodata impactul factorilor de risc.

Raman, ca posibilitate, de evitat - in principal - factorii de risc economic, cei care tin in deosebi de problemele pietii, ale desfacerii produselor, ale confruntarii cu concurenta. Acesti factori – prin tendinta de a obtine produse mai ieftine – pot afecta aplicarea reala a unor tehnologii de varf, ceea ce poate face posibila incidenta unor factori de risc tehnologic, care ar putea afecta:

- productivitatea culturilor,
- eficienta si acuratetea proceselor de prelucrare a biomasei,
- calitatea produsului final, si chiar nivelul de productie.



In fine, dar nu in ultimul rand, trebuie sa amintim ca tot sisteme specializate de acvacultura stau la baza unor proiecte de dezvoltare a unor calatorii de lunga durata in spatiul cosmic.

In esenta, se are in vedere realizarea in cadrul navei cosmice a unui **sistem ecologic propriu** (care s-ar incadra intre sistemele de tip “inchis”). Pe baza energiei luminoase furnizate de sistemele de forta proprii ale navei (de natura atomica), plantele acvatice (alge, macrofite) crescute in sistem intensiv in bazine speciale, ar produce nu numai biomasa vegetala cu calitati nutritive superioare, ci si oxigenul necesar respiratiei cosmonautilor. Totodata, in procesul de fotosinteza aceste plante ar asimila dioxidul de carbon din nava, rezultat din respiratia personalului uman, folosind totodata si nutrientii din excrete, dejectii etc. Astfel, in spatiul navei cosmice se realizeaza un sistem ecologic relativ simplu, alcatuit din:

- sursa de energie luminoasa;
- surse de nutrienti si dioxid de carbon (regenerabile);
- producatori primari fotosintetici;
- consumatori finali (omul).

Este posibil ca astfel de sisteme sa stea la baza unor viitoare nave de mare capacitate, necesare in posibile actiuni de colonizare a altor corpuri ceresti de catre *Homo sapiens*.



Lucrări de Laborator

1. Analiza unor comunități naturale de alge pentru identificarea unor specii de interes pentru trecerea în acvacultură

În cursul referitor la Productia și Productivitatea Ecosistemelor Acvatice (audiat în anul I de studii) au fost prezentate destul de cuprinzător aspecte principale ale structurii și funcționării componentelor vegetale ale biocenozelor din ecosistemele acvatice.

S-a constatat cu acel prilej ca flora bazinelor acvatice – marine, oceanice sau continentale – este extrem de variată. Tocmai acest genofond extrem de divers (care însumează peste 40000 specii de alge) oferă șansa selectării unor specii de interes ca obiecte ale acvaculturii (algoculturii, în acest caz), ținând seama de trei categorii principale de criterii, și anume:

- Ce poate oferi organismul respectiv (materii prime industriale, alimentare, de uz furajer sau medicinal; surse de energie; mijloace de depoluare etc);
- Caracteristicile biologice ale sale (cerințe ecofiziologice, ritm de creștere, necesități nutritive, viteza de reproducere, rezistența față de unii factori nefavorabili ai mediului, compoziție biochimică etc);
- Caracteristici biotehnologice (materialul biologic inițial, capacitatea algei respective de a se adapta condițiilor de cultivare, specificul instalațiilor de cultivare necesare, condiții de creștere controlată în flux, specificul prelucrării biomasei s.a.).

Plecând pe de o parte de la aceste criterii, iar pe de altă parte de la cunoașterea compoziției floristice globale a unor ecosisteme acvatice – iazuri, lacuri, balti, ape curgătoare – din zonă, se poate trece la selectarea unor specii și, ulterior, chiar a unor linii populationale destinate introducerii în cultură.

Ca formațiuni principale din cadrul biocenozelor acvatice, ce pot furniza material biologic necesar creșterii dirijate a unor organisme vegetale, menționăm în primul rând **fitoplanctonul**, care cuprinde în general un număr extrem de mare de populații, dintre care se pot selecta/izola cele convenabile. Multe dintre speciile de alge deja trecute în cultură – uneori chiar în producția industrială, precum *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus quadricauda*, *Botryococcus braunii*, *Spirulina platensis*, provin din biocenoza planctonică.

Alte specii de alge de interes pentru creșterea dirijată au fost prelevate din apele marine/oceanice.

În fine, amintim și alga verde *Haematococcus pluvialis* care se găsește frecvent în micile balti formate din apa de ploaie.

Pentru analiza comunitatilor de producatori primari din care se pot selecta organisme pentru trecerea in cultura dirijata, este necesara parcurgerea urmatoarelor “pasi”, respective efectuarea unor operatiuni succesive distincte.

- Inventarierea generala a ecosistemelor acvatice din zona;
- Analiza structurii biocenozelor respective, cu evidentiarea compozitiei producatorilor primari, pe categorii;
- Identificarea speciilor deja cunoscute ca fiind obiect al preocuparilor de algocultura;
- Realizarea unui inventar cuprinzator al speciilor de interes imediat sau de perspectiva pentru algocultura, cu date referitoare la distributia lor in spatiu si dinamica lor in timp;
- Obținerea de date comparative privind caracteristicile de bioproductivitate ale diferitelor populatii din zona;
- Obținerea de informatii comparative asupra compozitiei chimice a biomasei diferitelor specii si linii de alge din zona;
- Identificarea unor eventuale surse de poluare cu impact asupra fondului genetic, asupra caracteristicilor chimice si a celor bio-productive ale populatiilor investigate.

Toate aceste informatii ar trebui stocate intr-o baza de date, permanent actualizata.

A. Inventarierea ecosistemelor acvatice

Pentru realizarea acestei operatii este necesara, pe de o parte, trecerea in revista a principalelor izvoare documentare, dintre care amintim, ca surse de baza :

- lucrarea “Lacurile din Romania” (P.Gâțescu, 1973);
- lucrarea “Geografia apelor Romaniei” (I.Ujvári, 1975);
- colectia “Judetele Patriei” realizata sub egida Institutului de Geografie si publicata de Editura Academiei, in intervalul 1970-1980.

In aceste lucrari, care pot fi desigur completate cu altele, mai specifice, se gasesc informatii referitoare la ecosistemele acvatice ale Romaniei, date privind caracteristicile lor fizice, privind compozitia apei etc.

Pe de alta parte este, evident, indispensabila si recunoasterea proprie a terenului, pentru constatarea situatiei de la fata locului, pentru evaluarea nivelului de interes al unui bazi sau altul, a accesibilitatii acestuia, a zonelor reprezentative, favorabile pentru prelevarea de material algologic etc.

In principiu este necesar a se lua in considerare – ca surse de organisme utilizabile pentru cresterea dirijata – atat ecosistemele eutrofe, cat si cele mezo- sau chiar cele oligotrofe.

B. Analiza structurii biocenozei

In functie de datele si informatiile deja acumulate, dar si in functie de scopurile, specificul si amploarea activitatilor de algocultura propuse, este necesara analiza structurii biocenozei din ecosistemele care prezinta interes in vederea selectarii materialului biologic.

Pentru aceasta, trebuie sa se tina seama de urmatoarele elemente:

- Variabilitatea in timp, de-a-lungul diferitelor sezoane a structurii biocenozei; aceasta face ca, pe parcursul sezonului de vegetatie, din acelasi ecosistem sa putem obtine material biologic apartinand la specii foarte diferite, prezente uneori in biocenoza numai pentru perioade foarte scurte de timp;
- Neuniformitatile in distributia spatiala a unor populatii de alge, legate de discontinuitatea conditiilor de mediu, de existenta unor microhabitate etc.

Ca atare, analiza structurii comunitatilor vegetale din cadrul biocenozei unui ecosistem acvatic va trebui efectuata cu multa atentie, urmand metodologia generala descrisa deja in suportul de curs referitor la “Productia si Productivitatea Ecosistemelor Acvatice – Productia primara”, prezentat in anul I de studii.

In functie de situatie, se va realiza o examinare cat mai cuprinzatoare a alcatuirii algoflorei planctonice, dar si a algelor fixate pe vegetatia macrofita, ca epifiton, cat si pe fundul bazinelor, ca microfitobentos. Se va tine seama de necesitatea investigarii de teren in mai multe sezoane ale anului, chiar iarna.

C. Identificarea speciilor care constituie deja obiect pentru algocultura

Dupa cum am aratat in suportul de curs, un numar de specii de alge au fost deja introduse in practica algoculturii, dupa parcurgerea etapelor de cercetare de laborator sau cea de nivel statie-pilot.

Investigarea in continuare a acestor specii prezinta mai ales un interes practice, legat de posibilitatea descoperirii si a punerii in valoare a unor linii noi a speciilor respective, provenind din populatii crescute in conditii de mediu diferite; in aceste circumstante, si ca urmare a unei izolatri genetice de lunga durata, este posibila aparitia unor anumite caracteristici morfo-fiziologice si biochimice deosebite si stabile, avantajoase pentru algocultura.

Dintre speciile deja selectate si introduse in practica algoculturii, amintim:

Chlorophyta (Alge verzi) :

- *Ankistrodesmus falcatus*;
- *Actinastrum hantzschii*;
- *Botryococcus braunii*;
- *Chlamydomonsa debaryana*;
- *Chlorella pyrenoidosa*;
- *Chlorella vulgaris*;
- *Coelastrum cambricum*;
- *Coelastrum microporum*;
- *Dunaliella salina*;
- *Dunaliella viridis*;
- *Haematococcus pluvialis*;
- *Scenedesmus acuminatus*;
- *Scenedesmus acutus*;
- *Scenedesmus arcuatus*;

- *Scenedesmus ecornis*;
- *Scenedesmus quadricauda*;
- *Selenastrum bibraianum*

Cyanophyta (Cyanobacteria – Alge albastre):

- *Spirulina fusiformis*;
- *Spirulina platensis*

Desigur, aceasta lista, oricum sumara, nu poate fi considerata ca exhaustiva.

D. Inventarierea distributionala a speciilor de interes

O alta componenta a activitatii care vizeaza cresterea dirijata a unor organisme vegetale – a algelor, in acest caz – o constituie crearea unei baze de date in care sa fie cuprinse, printre altele, informatii privitoare la prezenta diferitelor specii de interes [entru activitatile de algocultura.

O asemenea baza de date ar trebui sa cuprinda:

- Lista speciilor luate in considerare;
- Ecosistemele in care aceste specii au fost identificate;
- Informatii referitoare la perioade din sezonul de vegetatie in care speciile au fost intalnite;
- Alte informatii utile.

Organizarea bazei de date au putea utiliza formatul unui tabel de tipul celui prezentat mai jos:

Specia	Ecosistemul	Statia (zona) de prelevare	Biotopul obisnuit	Luna prezentei maxime in bazin	Codul culturii *)
Specia 1					
Specia 2					
Specia 3					
etc					

*) Codul culturii cuprinde un simbol de identificare a materialului biologic in cazul in care acesta a fost trecut deja in cultura si este pastrat intr-o colectie ± permanenta de organisme destinate cresterii dirijate.

E. Bioproductivitatea comparativa a populatiilor

Pentru a aselecta varianta optima, care sa asigure o productivitate maxima in procesle de algocultura, este necesara derularea unui program preliminar de evaluare a capacitatii bioproductive a diferitelor specii sau linii de alge.

In acest scop se pot realiza culturi la scara mica, de laborator, in care se va urmari in mod comparativ evolutia paralela (in conditii de crestere comparabile) a productiei de biomasa de catre diferitele specii sau linii de microfitе.

Pentru microalge, determinarea dinamicii cantitative a culturii se poate face in mod obisnuit fie prin numararea la microscop a exemplarelor, raportandu-le la unitatea de volum, fie prin cantarirea biomasei la o balanta analitica de precizie.

Pentru numarare, se foloseste metoda descrisa in cadrul lucrarilor practice din anul I la cursul “Productia... / Productia primara”.

In cel de al doilea caz, dupa omogenizarea suspensiei algale, se ia o cantitate precisa de amestec (mediu lichid + alge), care se filtreaza printr-un filtru membrana sau un filtru cantitativ de hartie, cu porozitatea cea mai fina; dupa uscare, acesta se racantareste, diferenta reprezentand masa uscata a algelor, care se raporteaza la unitatea de volum si, desigur, la perioada de cultivare.

De exemplu, pentru o cultura de 25 zile se face urmatorul calcul :

Greutatea initiala a filtrului (uscat la 105 ⁰ C) :	4,2116 g;
Greutatea filtrului + biomasa dupa uscare la 105 ⁰ C :	4,7705 g;
Greutatea neta a biomasei :	0,5589 g;
Cantitatea de suspensie filtrata :	200 ml;
Densitatea biomasei algale la 1 litru suspensie :	2,7945 g
(ca substanta uscata)	
Productivitatea medie a culturii dupa o perioada de 25 zile :	0,11178 g s.usc./l/zi

F. Compozitia biochimica

Cunosterea caracteristicilor chimice ale compozitiei biomasei obtinute prin cresterea dirijata a unor organisme vegetale reprezinta un criteriu extrem de important in selectarea unei specii sau a alteia, a unei linii sau a alteia, in vederea cresterii dirijate.

Pentru determinarile chimice este indispensabila colaborarea cu un laborator specializat in analize chimice curente asupra unor probe de biomasa vegetala.

Se vor analiza cel putin urmatorii parametri generali:

- Continutul de apa in biomasa proaspata;
- Continutul de substanta uscata in biomasa proaspata;
- Continutul de substanta organica in masa uscata;
- Cantitatea de cenusa in masa uscata;
- Proteine totale;
- Celuloza;
- Lipide.

In functie de scopurile urmarite si de posibilitatile concrete de lucru, se pot face si alte determinari, deosebit de interesante, precum:

- Cantitatile de aminoacizi;
- Vitamine;
- Compozitia minerala etc.

Metoele de determinare sunt cele utilizate in mod curent in laboratoarele de analize chimice.

Pentru obtinerea unor informatii relevante, este necesara si respectarea unor anumite norme si proceduri specifice de recoltare, conservare si prelucrare a materialului biologic

destinat analizelor. In acest sens se vor lua masurile pentru a se evita posibilitatile de alterare a materialului biologic proaspat; in functie de situatie, acesta se va pastra un timp la temperaturi scazute. Uscarea biomasei vegetale se va face astfel incat sa nu se ajunga la alterarea sa ori, datorita unor temperaturi prea mari (de ex. peste 45 °C) sa se produca schimbari in compozitia chimica initiala. In acest scop se poate folosi cu rezultate destul de bune o etuva de laborator cu termoreglare si cu ventilatie.

G. Surse de poluare cu impact asupra fondului genetic, asupra caracteristicilor chimice si bioproductive ale populatiilor investigate

In fine, dar nu in ultimul rand, se apreciaza ca este important a se identifica la modul foarte amanuntit eventualele surse de poluare care – pe termen scurt, mediu sau lung – pot afecta caracteristicile chimice si/sau proprietatile bioproductive ale populatiilor vegetale ce prezinta interes pentru acvacultura si, in final, chiar valoare de intrebuintare a biomasei obtinute.

Pentru aceasta, se vor urma doua cai de abordare mai importante:

- Investigarea detaliata a zonelor limitrofe fiecarui ecosistem acvatic vizat, pentru stabilirea eventualei prezente a unor surse de poluare difuze sau punctiforme;
- Esantionarea si prezentarea probelor la un laborator de analiza autorizat in vederea stabilirii caracterului si amplitudinii proceselor de poluare.

Ar fi de utilitate si analiza chimica a biomasei unor organisme care au capacitatea de a acumula, in timp, anumite noxe, ceea ce poate oferi date asupra actiunii **anterioare** a unor surse de poluare in zona. Astfel de organisme indicatoare pot fi considerate unele moluste din grupa celor filtratoare, precum Anodonta, Dreissena sau Unio, cat si unele plante perene, precum stuful sau papura.

Pentru activitatea practica de laborator in sensul celor de mai sus sunt necesare urmatoarele dotari:

- Microscop de laborator, pentru examinarea compozitiei unor comunitati de microfite din care se pot separa specii de interes pentru algocultura;
- Micrometru ocular etalonat, pentru masurarea dimensiunilor unor organisme microscopice, operatie necesara in vederea determinarii speciilor;
- Determinatoare de alge, pentru identificarea apartenentei specifice a unei populatii sau a alteia;
- Vase de cultura diverse (baloane Erlenmeyer etc);
- Medii nutritive;
- Balanta analitica;
- Etuva de termoreglare;
- Instalatii de laborator pentru cultivarea algelor;
- Materiale curente de laborator (pipete, palnii, filter, lame, lamele etc).

Desfasurarea efectiva a lucrarii consta in:

- Identificarea, in probe fitoplanctonice concentrate, provenind din iazuri piscicole, balti, lacuri si lacuri de baraj artificial, a speciilor apartinand genurilor *Ankistrodesmus*, *Scenedesmus* si *Chlorella*, care pot deveni obiect al culturilor de laborator;
- Determinarea gravimetrica a cantitatii de alge din cadrul unor suspensii provenind din culturi experimentale.

2. Determinarea productiei de biomasă în sistemele de crestere a algelor

Prelevaerea probelor necesare pentru analize se face, de regula, imediat dupa o buna **omogenizare** a suspensiei algale din instalatia de cultivare; aceasta omogenizare se obtine prin actionarea sistemelor tehnice respective de agitare (prin barbotare, prin agitarea mecanica a mediului etc). In acest fel se ajunge ca proba destinata analizei sa fie reprezentativa pentru intreaga masa a suspensiei algale din instalatie.

Proba destinata analizelor microscopice consta dintr-un volum – cunoscut – de mediu nutritiv continand suspensia algala.

Dupa esantionare, proba poate fi fixata (cu cateva picaturi de formol) in eventualitatea ca analiza nu va fi facuta imediat sau, pur si simplu, in vederea pastrarii acesteia in colectia de probe de material biologic, pentru utilizari ulterioare.

Analiza propriu zisa poate viza in primul rand doi parametri mai importanti ai dezvoltarii cantitative a populatiilor algale in cultura, si anume:

- Densitatea numerica, exprimata prin numarul de cellule, cenobii, filamente sau colonii la unitatea de volum de mediu de crestere (obisnuit – exemplare/ml);
- Biomasa, exprimata ca miligrame de material vegetal proaspat la unitatea de volum de mediu nutritiv (de regula – mg/litru).

Metoda de analiza nu difera cu nimic fata de procedeul prezentat in detaliu la lucrarile practice de la cursul “**Productie primara**” din anul I de studii, utilizat pentru analiza cantitativa a fitoplanctonului.

Singura deosebire vizeaza nu modul de lucru, ci specificul comunitatii analizate: in cazul planctonului se determina densitatea numerica proprie a unui numar relativ mare de specii, iar in cazul culturilor algale, se ia in considerare o singura specie de alge.

Pentru determinarea **biomasei** se vor folosi datele referitoare la densitatea numerica a suspensiei algale, cat si volumul celular mediu determinat pentru specia respective. Valorile obtinute (mg/litru) se vor raporta la durata perioadei de cultivare si se va evalua astfel productivitatea globala a culturii in conditiile date.

În al doilea rând, odată cu analiza cantitativă, este recomandabil să se efectueze și observații privind starea microalgelor din cultura respectivă, eventualele modificări morfologice și dimensionale induse de condițiile de creștere, cât și – dacă este cazul – apariția unor specii străine.

* *

Pentru **determinarea producției de biomasa algala** în sistemele de creștere de capacitate mai mare, de tip stație-pilot sau chiar unitate de producție industrială, se practică în mod obișnuit **determinarea gravimetrică** a biomasei algale.

Pentru aceasta, după omogenizarea suspensiei algale – se procedează la recoltarea unei probe din instalația de cultivare, de ordinul a 250 – 500 ml. Suspensia se trece apoi printr-un filtru de hartie de tipul celor “banda albastră” (cu porozitate fină) utilizate în laboratoarele de hidrochimie pentru determinarea suspensiilor din apă.

Filtrul respectiv se usucă în prealabil în etuvă la temperatura de 105° C și se cântărește la balanța analitică. După terminarea filtrării, hartia de filtru cu materialul algal reținut prin filtrare se clătește cu apă distilată, pentru îndepărtarea substanțelor solubile provenite din mediul nutritiv, rămase în biomasa algala dar și în structura filtrului însuși.

În continuare, filtrul se introduce din nou în etuvă, se usucă la temperatura de 105° C, se face o nouă cântărire și apoi se determină rezultatele.

Exemplu de calcul :

- Greutatea inițială a filtrului uscat la 105° C : 3,0452 g
- Greutatea filtrului + biomasa algala, după uscarea la 105° C : 3,2877 g
- Greutatea biomasei algale uscate : 0,2425 g
- Deci, în 500 ml suspensie algala s-a determinat o cantitate de biomasa uscată de 0,2425 g
- Atunci, în 1 litru de suspensie există **0,4850 g subst.uscată**

Presupunând că perioada de cultivare a algei respective a fost de 12 zile, se obține o valoare medie zilnică a productivității culturii de 0,4041 grame substanță uscată.

Dacă bazinul de cultivare are un volum de mediu nutritiv de 5,8 metri cubi, de exemplu, rezultă că producția efectivă de biomasa algala, la nivelul întregului bazin a fost, după 12 zile de cultivare continuă – în condițiile de mediu respective – **de 2,813 kg substanță uscată.**

În practică, rezultatele obținute se raportează la volumul sau suprafața instalațiilor/bazinelor de creștere și a perioadei efective de cultivare pentru a determina productivitatea culturii.

În cadrul **lucrării de laborator**, activitatea concretă constă în:

- Determinarea densitatii numerice a unor probe fixate provenind din culturi de *Scenedesmus*, *Chlorella*, *Spirulina* sau *Haematococcus*;
- Determinarea volumului celular specific la culturi de *Scenedesmus*, *Chlorella* sau *Haematococcus*;
- Calculul productiei/productivitatii in culturi de alge de laborator.

3. Obținerea și întreținerea de culturi algele în condiții de laborator

După identificarea ecosistemelor din care urmează să se procure materialul biologic necesar pentru introducerea în cultură și prelevarea unor probe vii, nefixate, se poate pregăti izolarea organismelor aparținând speciilor vizate, pentru trecerea lor ulterioară în condiții de creștere, în laborator.

Izolarea unor organisme algele în vederea obținerii unor culturi pure se face plecând de la probe recoltate dintr-un bazin acvatic, probe care de regulă conțin un număr mare de populații algele, aparținând la specii foarte diferite.

Prima fază de lucru constă, evident, în examinarea probelor la microscop, pentru a se stabili compoziția calitativă a comunității respective; în funcție de situație se pot căuta și anumite specii, care prezintă interes. Va fi utilă, în vederea stabilirii procedurilor de diluție, determinarea densității populationale la specia/speciile care ne interesează. Pentru aceasta se vor folosi metodele prezentate și aplicate la lucrările de laborator de la cursul “Producția primară” (Masterat - anul I).



Se recomandă ca din proba inițială, după omogenizare să se separe o subproba, care să fie fixată și păstrată în colecție. Ea va servi ca “proba martor” pentru compoziția inițială a comunității; va putea, de asemenea, să fie utilă pentru compararea morfologică și dimensională a celulelor crescute pe parcursul timpului în condiții de cultură, eventual în medii nutritive variate, cu celulele inițiale aparținând speciei respective.

În faza următoare se realizează o cultură brută; aceasta se poate face în variante paralele, cu medii nutritive variate. În funcție de cerințele ecofiziologice ale speciilor, se va ajunge la predominarea unei specii sau a alteia.

Din aceste culturi brute se poate face apoi izolarea speciilor care prezintă interes.

Izolarea se face prin mai multe metode.

Una dintre cele mai precise se bazează pe utilizarea dispozitivelor de tip micromanipulator: lucrându-se sub microscop, se poate preleva chiar și o singură celulă aparținând speciei cautate.

În cadrul lucrărilor de laborator vom utiliza o altă metodă – cea a **diluțiilor succesive**.

În principiu, metoda se bazează pe scăderea densității populațiilor prin diluarea repetată, astfel ca să se ajungă la o densitate de ordinul unei singure celule/ml, de exemplu. Folosind ca inocul o cantitate – de 1 ml, de exemplu – se poate obține o cultură monospecifică. Pentru siguranța reușitei, se vor face inoculări paralele în mai multe vase de cultură.

Pentru exemplificare, să presupunem că în cultura brută, după menținerea ei în condiții de laborator, am identificat prezența a trei populații de alge și am determinat densitatea numerică a fiecăreia:

Populația 1 - 14800 celule/ml

Populația 2 - 350 celule/ml

Populația 3 - 11540 celule/ml.

După omogenizare, prelevăm 1 ml din această cultură brută și-l folosim ca inocul, introducându-l într-un recipient care conține același mediu nutritiv, în cantitate de 99 ml.

În acest fel, densitățile respective devin:

Populația 1 – 148 celule/ml

Populația 2 – 3,5 celule/ml

Populația 3 – 115 celule/ml

La următoarea diluare, în același raport (1/100), se ajunge la densitățile:

Populația 1 - 1,48 celule/ml

Populația 2 - 0 celule/ml

Populația 3 – 1,1 celule/ml

Aceste variante de cultură de laborator vor sta la baza obținerii unor culturi monoalgale. Pentru siguranță, după o perioadă de 5-10 zile, se va proceda la verificarea compoziției culturii; în cazul că în mediul nutritiv a(u) apărut și alta(e) specii de alge, operația descrisă mai sus se repetă, până se ajunge la o cultură monospecifică.

După obținerea unei culturi pure, care conține numai specia de alge care ne interesează, este necesară **multiplicarea** acestei culturi, în scopul obținerii unei rezerve necesare de material biologic selecționat.

Multiplicarea este necesară pentru a dispune de o rezervă de siguranță, utilă în cazul apariției unor situații nedorite (infecțarea unei culturi, spargerea accidentală a unui vas de cultură etc), cât și în contextul unor activități didactice sau al unor proiecte de cercetare, când poate apărea nevoia de a dispune deodată de o cantitate mai mare de material biologic selecționat.

Periodic este, evident, necesară verificarea purității tuturor culturilor de laborator.

Precizăm că este indispensabilă păstrarea unei evidente clare și precise a culturilor de laborator obținute; identitatea fiecărei culturi trebuie stabilită imediat și cu precizie.

Pentru aceasta, fiecare vas de cultură va primi un număr de cod propriu, nerepatabil; în registrul (baza de date) referitoare la culturile realizate, acestui cod îi vor corespunde următoarele informații:

- indicativul de colectie (codul);
- specia de alga pastrata;
- locul prelevarii;
- data prelevarii;
- data izolarii;
- cine a facut izolarea;
- mediul nutritive in care este pastrata cultura;
- numarul de repetitii (variante paralele) ale aceleiasi culturi;
- ultima improspatare a mediului nutritive (daca este cazul).

Astfel, pentru specia *Scenedesmus quadricauda*, de exemplu, pe vasul de cultura va apare notatia:

Sce.qu.- 151

Apeland la registrul colectiei, la codul respective gasim informatiile necesare:

Populatia respectiva de *Scenedesmus quadricauda*, cu numarul de ordine 151 a fost izolata din ecosistemul “lacul de baraj Galbeni”, de exemplu, de cine a fost izolata, cand, si ca este pastrata in mediul nutritiv Knop, de pilda.

In cazul ca avem mai multe culturi, paralele, (repetitii) din aceeași specie si aceeași linie de provenienta, acestea vor putea primi numere derivate (subordonate), de ex.

Sce.qu.151.1; Sce.qu.151.2 etc.

Pentru pastrarea in laborator a culturilor pentru o perioada mai lunga de timp este necesara asigurarea unor conditii de mediu care sa corespunda cerintelor ecofiziologice ale fiecărei specii de alge.

In ceea ce priveste **conditiile fizice** ale mediului de crestere, mentionam ca temperatura mediului ambient trebuie sa fie de regula situata la limita inferioara a intervalului termic optim pentru specia respectiva. Se considera oportuna aceasta optiune, intrucat in cazul pastrarii indelungate a culturilor in conditii de laborator nu se urmareste obtinerea unei bioproductivitati ridicate, ci numai supravietuirea, in conditii de sanatate (normalitate fiziologica) a unor “populatii” monospecifice de alge, utilizabile la un moment sau altul pentru dezvoltarea unor culturi mai consistente.

La modul general, se recomanda pastrarea culturilor permanente de alge la temperaturi de ordinul a 13-15⁰ C; pentru speciile termofile sau pentru cele criofile se stabilesc gradientii termici corespunzatori.

Cel de la doilea factor fizic major – **lumina** – trebuie sa permita derularea normala a proceselor de fotosinteza la nivel minim, de supravietuire; pentru aceasta, in mod obisnuit culturile “permanente” (respectiv colectiile de culturi) se pastreaza la intensitati ale luminii de ordinul a 2000 – 3000 luxi.

In practica, se poate utiliza fie lumina solara, dar evitandu-se expunerea directa la soare, fie sisteme artificiale de luminare, bazate pe tuburi fluorescente cu lumina alba. In acest caz, regimul de iluminare poate fi de 10 ore lumina/14 ore intuneric.

In ceea ce priveste **compozitia chimica** a mediilor de crestere, aceasta este foarte variata; in cadrul partii teoretice a prezentului curs au fost prezentate mai multe tipuri de retete, adecvate diferitelor cerinte metabolice sau feluri de alge.

Precizam totusi ca unul dintre cele mai frecvent utilizate medii nutritive pentru mentinerea indelungata a unor culturi de alge in conditii de laborator, este mediul **PRAT**, cu urmatoarea compozitie:

Ingredient	Cantitate (g)
KNO ₃	0,10
K ₂ HPO ₄	0,01
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	0,01
FeCl ₃ . 6 H ₂ O	0,001
Agar	1,2 %
Apa	1000 ml

Un alt mediu de uz general, nespecific, larg utilizat pentru mentinerea unor culturi de alge vii in laborator, este mediul BBM (cf. Nichols & Bold) :

Ingredient	Cantitate (g)
NaNO ₃	0,250
KH ₂ PO ₄	0,175
K ₂ HPO ₄	0,075
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	0,075
CaCl ₂ . 2 H ₂ O	0,025
NaCl	0,025
KOH 85 %	0,031
Sol.microelemente	1 ml
Sol.chelatizata de Fe	1 ml
Apa	1000 ml

Intretinerea culturilor de alge pastrate in conditii de laborator ca surse de material biologic selectionat, cu provenienta si caracteristici cunoscute, consta in principal in efectuarea urmatoarelor operatiuni:

- verificarea periodica a situatiei populatiei de alge din fiecare cultura (de regula, lunar)
- verificarea periodica a puritatii culturii – pentru a depista la timp eventuala aparitie a unor specii straine (alte alge, protozoare, ciuperci microscopice) si a lua masurile corespunzatoare;
- improspatarea periodica a mediului nutritiv (dupa situatie, la 4-6 luni).

* *

Înainte de a încheia prezentarea acestei lucrări practice, trebuie să amintim că există și o soluție principial diferită, o **alternativă** la păstrarea unor culturi de alge în condiții de laborator.

Este vorba despre folosirea unor tehnici ce vizează, în esență, menținerea/păstrarea unor microorganisme vegetale într-o stare de “viață latentă” (sare numită uneori și “anabioză”), care permite trecerea ulterioară – uneori după o perioadă îndelungată – la o stare fiziologică activă, normală, respectiv derularea ciclului obișnuit de viață și reproducerea algelor.

Pentru aceasta s-au testat, cu bune rezultate, tehnici de păstrare a materialului biologic în stare congelată, prin procedee speciale de înghețare profundă, procedee de liofilizare etc.

Pentru *Spirulina platensis*, spre exemplu, s-a experimentat congelarea profundă prin scăderea treptată a temperaturii suspensiei algale până la -60°C , în prezența unor aditivi organici speciali, capabili să asigure condițiile tehnice necesare pentru protecția celulelor față de eventualele leziuni produse în procesul de congelare. S-a observat că viabilitatea maximă a algelor s-a înregistrat la culturi tinere, crescute anterior la un nivel ridicat de luminare. Rezultate bune s-au obținut și în cazul uscării prin congelare (“freeze drying”) la această specie de alge, cât și la altele, de altfel.

Avantajul aplicării unor astfel de tehnici constă în aceea că sunt eliminate practice activitățile de întreținere, verificare, improspătare a mediilor nutritive practicate în culturile de colecție, activități costisitoare ca timp și ca mijloace. Un al doilea avantaj constă în eliminarea pericolului de contaminare a culturilor pe timpul păstrării lor în laborator.

4. Lucrare auxiliară : **Etalonarea micrometrului ocular**

Pentru determinarea dimensiunilor unui organism microscopic este indispensabilă folosirea unui micrometru ocular etalonat pentru fiecare microscop și combinație optică (ocular/obiectiv).

În acest scop trebuie folosit un micrometru ocular standard și un micrometru obiectiv.

Micrometrul ocular constă într-un disc de sticlă pe care a fost trasată o linie dreaptă împartită în diviziuni egale, conventionale.

Micrometrul obiectiv constă într-o lamă de sticlă pe care a fost trasată o linie dreaptă cu lungimea de 1 mm. Linia a fost împartită în 100 diviziuni egale, astfel că fiecare diviziune are mărimea de 10 micrometri.

Se poziționează micrometrul obiectiv pe platina mobilă a microscopului și se aduce în câmpul microscopic linia etalon a micrometrului obiectiv, se clarifică (focalizează) imaginea. Se introduce apoi în unul dintre oculare micrometrul ocular.

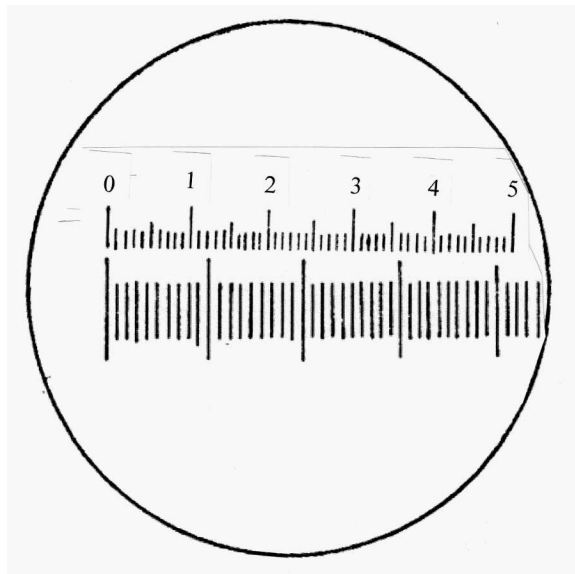
Operațiunea de etalonare se efectuează prin alăturarea liniei micrometrului ocular peste linia micrometrului obiectiv, și determinarea punctului de suprapunere exactă a unor diviziuni de la micrometrul ocular cu un număr de diviziuni ale micrometrului obiectiv.

Se face apoi calculul necesar pentru a determina valoarea unei diviziuni ale micrometrului ocular exprimată ca micrometri, pentru fiecare **combinație ocular/obiectiv**.

Pentru facilitarea determinarilor ulterioare ale dimensiunilor organismelor microscopice se poate întocmi un tabel cu valorile – precalculate – ale diferitelor măsuri observate cu micrometrul ocular. De ex.:

Ocular = 7 x, obiectiv = 20 x	
Indicații micrometru ocular (diviziuni)	Marimea reală a organismului (lungime -microni)
1	4,53
2	5,16
3	13,59
etc	

În imaginea de mai jos este prezentat un câmp microscopic, în care se distinge – în partea de jos – linia micrometrului obiectiv (a cărui diviziune minimă este de 10 microni), iar în partea de sus – linia gradată a micrometrului ocular.



Pentru a determina valoarea unei diviziuni a micrometrului ocular, constatăm că 48 diviziuni ale micrometrului ocular corespund – la 40 diviziuni ale micrometrului ocular, adică la 400 microni.

Din aceasta rezultă că o diviziune a micrometrului ocular corespunde, la sistemul de mărire utilizat, la **8,3 microni**.

Astfel de determinări trebuie efectuate pentru fiecare combinație ocular/microscop.

Revenind la exemplul de calcul de mai sus, dacă în preparatul microscopic apare o celulă de diatomee pe care, măsurând-o cu micrometrul ocular, constatăm că lungimea ei corespunde, de pildă, la 27 diviziuni. Astfel putem calcula lungimea reală a celulei respective, care este:

$$27 \text{ diviziuni micrometru ocular} \times 8,3 \text{ microni} = 224 \text{ microni}$$

Bibliografie

- Barna Adriana – 1978 – **Nutritia algelor, cu referire la posibilitatea utilizarii apelor reziduale industriale**
Rezumatul Tezei de Doctorat, Universitatea Cluj-Napoca; 35 p.
- Bednarz Teresa, M.Nowak – 1972 – **The selection of algae for mass culture purposes**
Acta Hydrobiologica, 14, 1, 1-18
- Brown, L. (ed.) – 1999 – **Starea lumii – 1999**. Editie Milenara. Ed.Tehnica, Bucuresti, 304 p.
- Burlew J. (ed.) - 1961 - **Algal culture from laboratory to pilot plant**
Carnegie Institution, Washington, Publ. 600, 357 p.
- Cărăuș I. – 2002 – **Algae of Romania**.
Studii si Cercetări, Biologie, Univ.Bacău, 702 pag.
- Carpenter E.J. – 1968 – **A simple, inexpensive algal chemostat**
Limnology and Oceanography, 13, 4, 720-721
- Clément G., D.Longchamp, M.Rebeller, H. Van Landeghem – 1980 – **The development of *Spirulina* algae cultivation**
Chemical Engineering Science, 35, 119-126
- Doucha J., J.Simmer – 1979 – **Synchronous cultures**
Algal Assays, 57-68
- Dragos N., L.St.Péterfi, Laura Momeu, Cristina Popescu - 1997 - **An introduction to the Algae and the Culture Collection of Algae**
Cluj University Press, 268 p.
- Doucha J. – 1979 – **Continuous cultures of algae**
Algal Assays, 181-191
- Eyster C. – 1968 – **Microorganic and microinorganic requirements for algae**
In: Algae, Man, and the Environment; Syracuse University Press, New York, 27-36
- Felföldy L.J.M. – 1962 – **A simple apparatus for culturing unicellular algae in large amounts for laboratory purposes**
Annal.Biol.Tihany, 29, 95-100
- Felföldy L.J.M., E.Szabó, L.Tóth – 1964 – **Pilot plant experiments on algal mass culture at Tihany**
Acta Biologica Acad.Sci.Hung., suppl.6, 14-15

- Fox, R.D. – 1999 – **Spiruline. Technique pratique et promesse.** Edisud (France), 246 p.
- Grinea D., I.Caraus, Elisabeta Sobaru-Ghibilic – 1979 – **Cercetari biogeochimice asupra unor alge de apa dulce. I. *Oscillatoria rubescens* (D.C.) Gom. din lacul de baraj Bicaz** Trav. Station “Stejarul”, 7, 135-142
- Hutner S.H., L.Provasoli – 1964 – **Nutrition of Algae** Annual Review of Plant Physiology, 15, 37-56
- Godeanu S. – 2004 – **Ecotehnie.** Ed.Bucura Mond, Bucuresti, 228 p.
- Goh A. – 1986 – **Production of microalgae using pig waste as a substrate** In: Algal Biomass Technologies. An Interdisciplinary Perspective. J.Cramer. Berlin-Stuttgart, H.83, 235-244
- Knaggs F.W. – 1968 – **A simple system for the controlled illumination of algal cultures** Netherlands J. of Sea Research, 4(1), 21-26
- Kosaric N., H.T.Nguyen, M.A.Bergougnou – 1974 – **Growth of *Spirulina maxima* algae in effluents from secondary waste-water treatment plants** Biotechnology an Bioengineering, XVI, 881-896
- Kuhl A. – 1968 – **Phosphate metabolism of green algae** In: Algae, Man, and the Environment; Syracuse University Press, New York, 37-52
- Little E.C.S. – 1979 – **Handbook of utilization of aquatic plants. A review of World Literature** FAO Fisheries Technical Paper No. 187 (FIRI/T187), Roma, 176 p.
- Marvan P., S.Pribil – 1979 - **Factors limiting the growth of algal cultures** Algal Assays, 47-56
- Muzafarov A.M., T.T.Taubaev – 1974 – **Chlorella** Izd. “FAN”, Tashkent, 132 p.
- Nagy-Toth F. – 1972 – **Cercetari privitoare la cultivarea intensiva a unor alge verzi** Rezumatul Tezei de Doctorat, Universitatea Cluj-Napoca; 78 p.
- Ogawa T., S.Aiba - 1978 - **CO₂ assimilation and growth of a blue-green alga, *Spirulina platensis*, in continuous culture** J.Appl.Chem.Biotechnology, 28, 515-521
- Ogawa T., T.Fujii, S.Aiba - 1980 - **Effect of oxygen on the growth (yield) of *Chlorella vulgaris*** Arch.Microbiol., 127, 25-31
- Ogawa T., H.Kozasa, G.Terui - 1971 - **Studies on the growth of *Spirulina platensis*. II. Growth kinetics of an autotrophic culture** J.Ferment.Technology, 50, 3, 143-149
- Ogawa T., G.Terui - 1970 - **Studies on the growth of *Spirulina platensis*. I. On the pure culture of *Spirulina platensis*** J.Ferment.Technology, 48, 6, 361-367

- Oswald W.J., C.G.Golueke - 1968 - **Harvesting and processing of waste-grown microalgae**
In: "Algae, Man and the Environment" (ed. D.F.Jackson); Syracuse University Press, 371-390
- Pribil S., P.Marvan – 1979 – **Batch cultivation**
Algal Assays, 175-180
- Richmond A., K.Preiss - 1980 - **The Biotechnology of Algaculture**
Interdisciplinary Science Reviews, 5, 1, 60-70
- Richmond A., A.Vonshak - 1978 - **Spirulina culture in Israel**
Arch.Hydrobiol.Beih./Ergebn.Limnol., 11, 274-280
- Richmond A., A.Vonshak, S.Arada -- 1980 - **Environmental limitations in outdoor production of algal biomass**
Algae Biomass, Elsevier, 65-72
- Roubicek R.V., G.Cunningham, L.White-Hosford, J.T.Patton - 1986 - **Growth characteristics of *Dunaliella salina***
In: Algal Biomass Technologies. An Interdisciplinary Perspective. J.Cramer. Berlin – Stuttgart; H.83, 70-74
- Rudic V., V.Gudumac, M.Popovici - 1995 - **Fotobiotehnologie – realizari noi in biomedicina**. Chisinau, ed.Cuant, 208 p.
- Sasson A. - 1988 - **Biotehnologiiile – Sfidare si Promisiuni**. Ed.Tehnica, Bucuresti, 280 p.
- Seshadri C.V., S.Thomas, R.Manoharan, N.Jeeji Bai, G.Raja - 1980 - **Mass culture of *Spirulina fusiformis***
Monograph Series Engineering of Photosynthetic Systems, Vol.5, 62 pp.
- Soeder C.J. - 1976 - **The technical production of microalgae and its prospects in waste-receiving waters. Waste Heat and Nutrient-Loaded Effluents in the Aquaculture**.
In: "Harvesting Polluted Waters", (ed. O.Devik), Plenum Press, New York, London, 11-26
- Soeder C.J. - 1980 - **Massive cultivation of microalgae: results and prospects**
Hydrobiologia, 72, 197-209
- Starr R.C – 1964 – **The culture collection of algae at Indiana University**
American Journal of Botany, 51, 9, 1013-1044
- Steenbergen C.L.M. – 1968 – **Obtaining synchronous cultures of algae**
Nature, 218, 5141, 574--
- Stengel E. - 1976 - **Higher plants as the basis for alternate food chains: Their potentialities in relation to mass culture of microalgae**
In: "Harvesting Polluted Waters" (ed. O.Devik), Plenum Press, New York, London, 281-297
- Switzer L. - 1980 – **Spirulina. The Whole Food Revolution**. Proteus Corporation, Berkeley, California; 102 p.

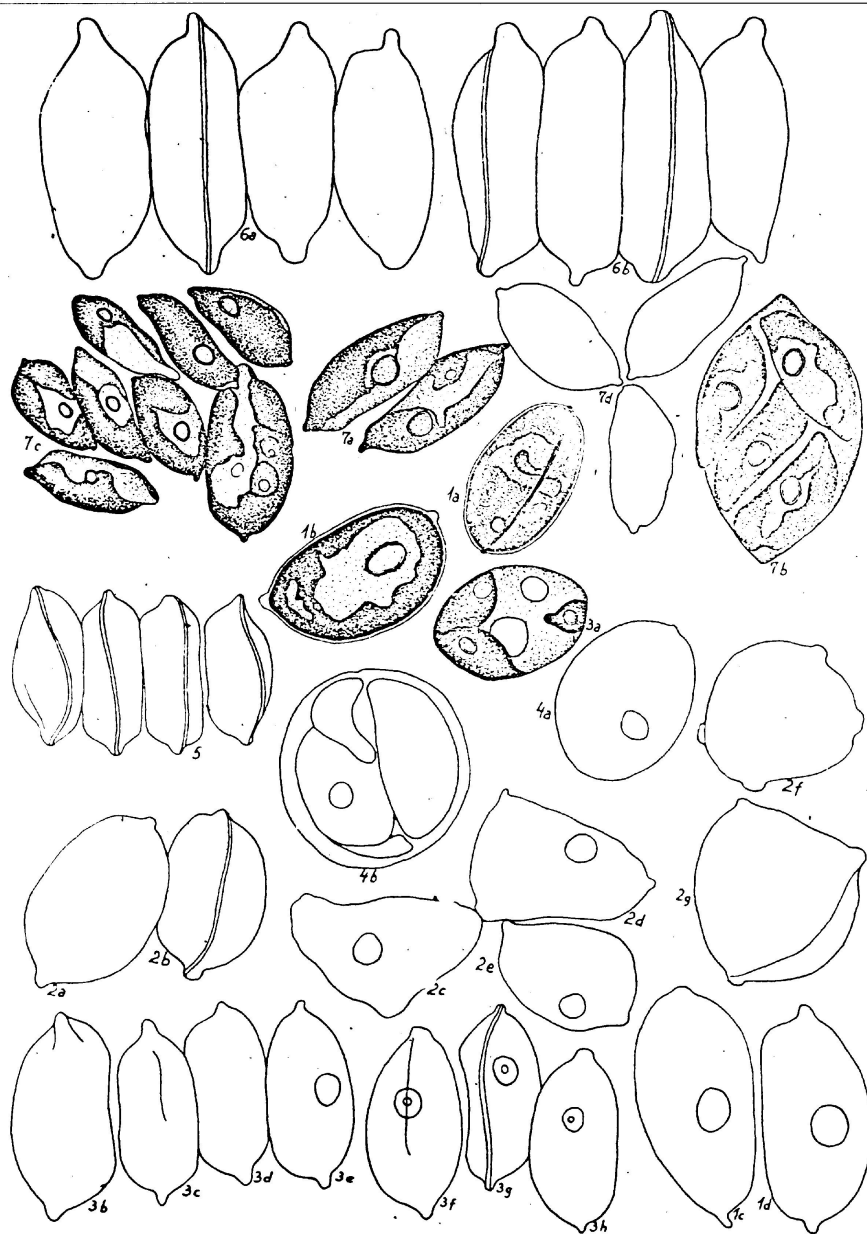
- Tel-Or E., S.Boussiba, A.E.Richmond - 1980 - **Products and chemicals from *Spirulina platensis***
Algae Biomass, Elsevier, 611-618
- Thomas S., G.Raja - 1980 - **Spirulina algae in rural pisciculture**
Natl.Workshop Algal Systems Proc., Madras, 16, 169-173
- Tseng C.K., M.Borowitzka – 2003 – **Algae Culture.**
In : Aquaculture. Farming Aquatic Animals and Plants. (Ed. By J.S.Lucas & P.C.Southgate). Blackwell Publishing Co., 253-275
- Verduin J., W.E.Schmid - 1966 - **Evaluation of algal culture as a source of food supply**
Developments in Industrial Microbiology, AIBS, Washington, 7, 23, 205-209
- Wieringa K.T. – 1968 – **A new method for obtaining bacteria-free cultures of blue-green algae**
Antonie van Leeuwenhoek, 34, 54-56
- Wolf F.R. - 1986 - **Physiological and metabolic studies on a branched hydrocarbon-producing strain of *Botryococcus braunii***
In: Algal Biomass Technologies. An Interdisciplinary Perspective. J.Cramer, Berlin-Stuttgart, H.83, 160-170
- Zarrouk C. - 1966 - **Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (Setch et Gardner) Geitler**
Thèse de Docteur; Université de Paris, 132 pp.

Anexã :

Specii de alge introduse in acvacultura sau de interes pentru acest
domeniu de activitate

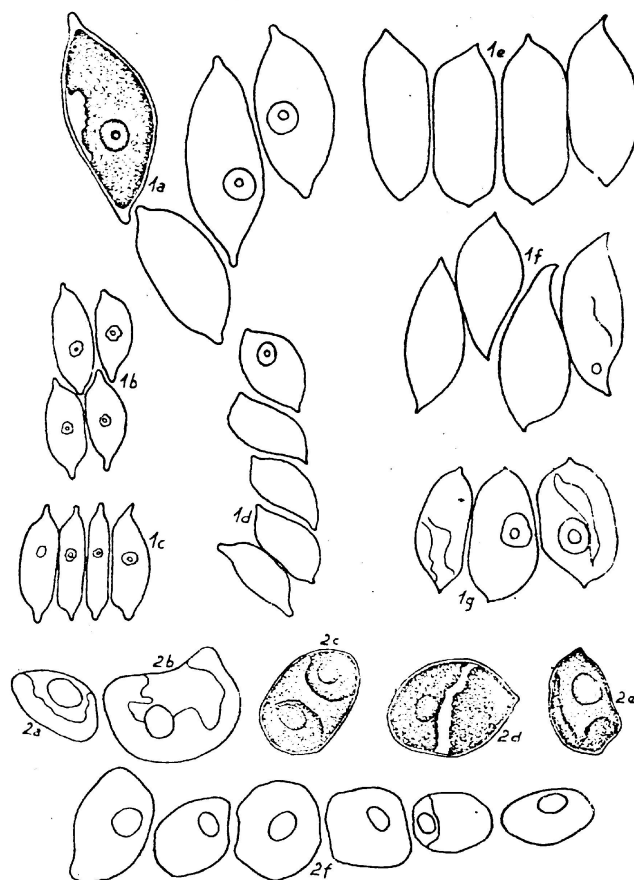
Instalatii de cultivare

Experiente de cultivare a Spirulinei in bazine exterioare la
Statiunea “Stejarul”



Scenedesmus acutiformis Schrod; în cultură statică în mediu Benecke+K₂ solid (1a-1d), lichid (2a-2g), în mediu Benecke-K solid (3a-3h), Knop - Pringsheim (4a-4b) și în cultură intensivă în soluție Benecke-K₂ (5), Benecke cu adaos de microelemente și EDTA (6a-6b), și Knop-Pringsheim-Felföldy (7a-7d).

Plansa 1

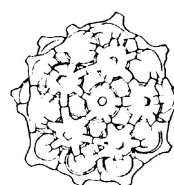
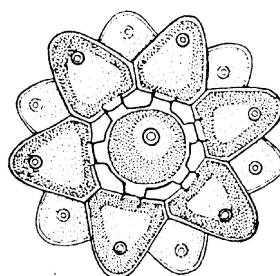
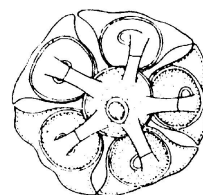
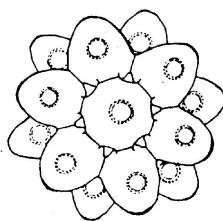


Scenedesmus acutus Heyen; în cultură statică în mediu solid Knop-Pringsheim (1a-1d) și în soluție Knop-Pringsheim-Felföldy (1e-1g).
Scenedesmus obtusiusculus Chod; în cultură statică în mediu solid Knop-Pringsheim (2a-2f).

Imaginile de mai sus ilustrează deosebirile
 morfologice și dimensionale
 în cazul cultivării unor microalge pe medii nutritive diferite sau prin
 tehnologii de creștere distincte



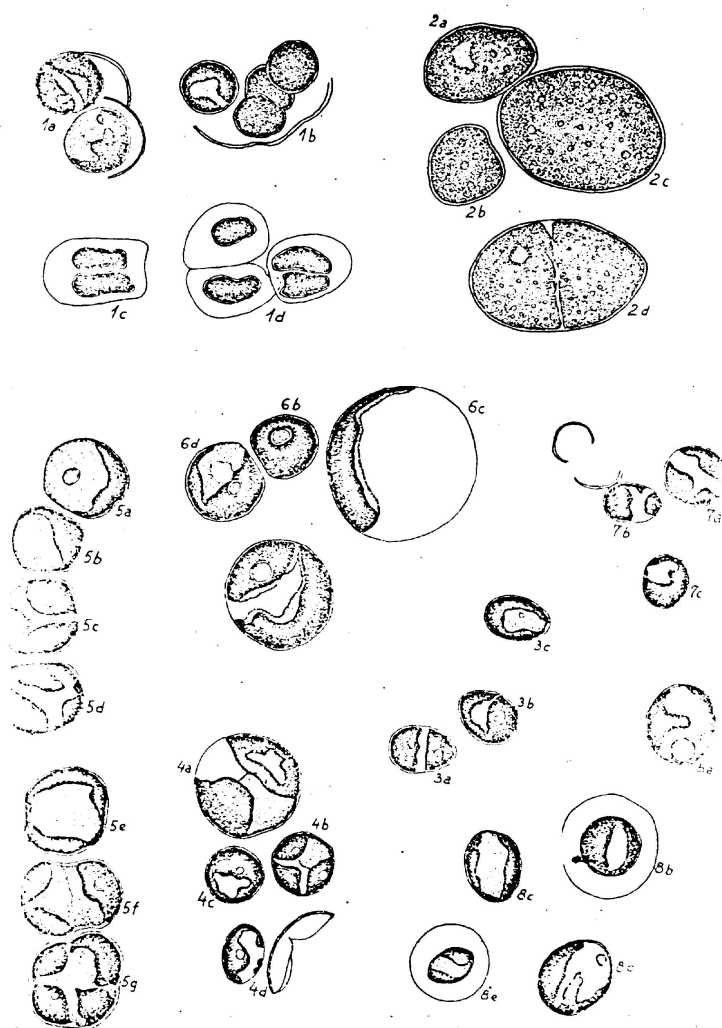
Chlamydomonas



Specii de *Coelastrum* (CHLOROPHYTA)

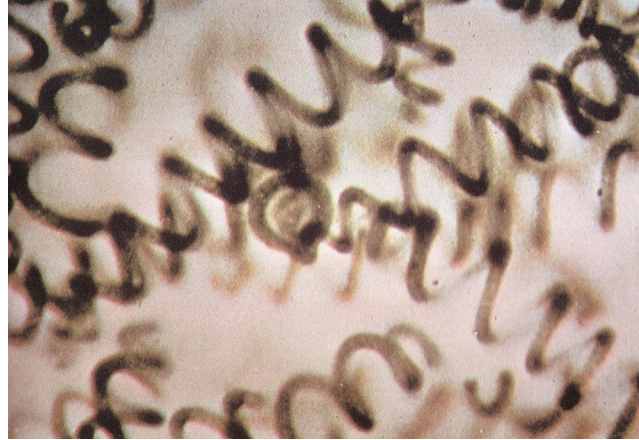


Spirulina fusiformis

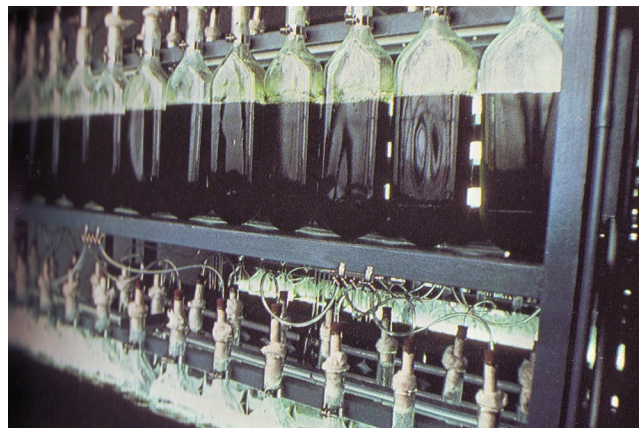


Pl. I. 1-2. *Schizochlamys gelatinosa* A.Br.; în culturi statice în mediu Benecke - K₂ (1a-1b), Knop-Pringsheim (1c-1d) și în cultură intensivă în soluție Benecke (2a-2d).
3-8. *Chlorella pyrenoidosa* Chick; în culturi statice în mediu Benecke-K (3a-3c), Benecke-K₂ (4a-4d), Knop-Pringsheim (5a-5g), Knop-Pringsheim-Felföldy (6a-6d), Mitsch (7a-7c) și Benecke-K₂ cu adaos de microelemente și EDTA (8a-8c).

Spirulina platensis : fotografie la microscop



Cultura de laborator : producerea materialului de inocul pentru
culturi masive, industriale

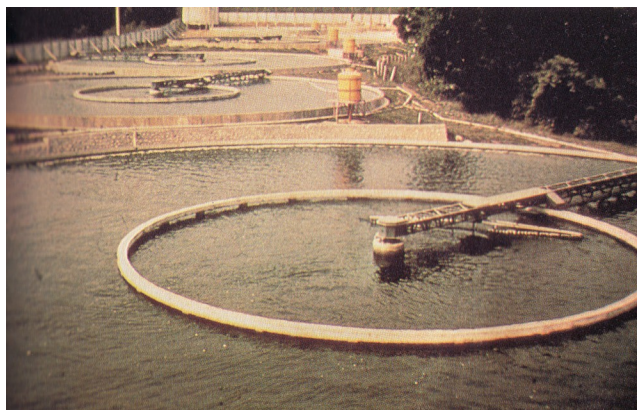


Plansa 5

Bazin orizontal, longitudinal pentru cultivarea intensiva a algelor

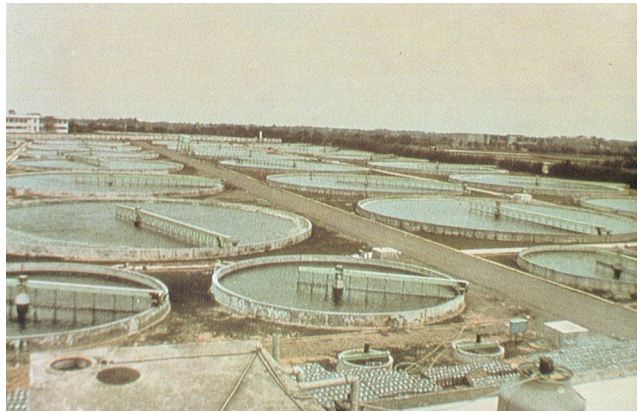


Bazin circular pentru cresterea intensiva a microalgelor

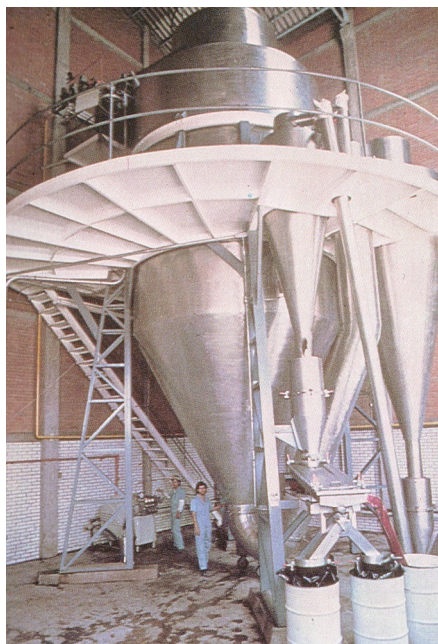


Plansa 6

Instalatie tehnologica pentru producerea la scara mare a biomasei algale:
Set de bazine circulare



Instalatie (atomizor) pentru uscarea biomasei algale obtinuta prin culturi in masa



Plansa 7

Experiente de cultivare a Spirulinei la Statiunea “Stejarul” (jud.Neamt) :



Cultura statica de *Spirulina platensis* in bazin exterior: faza initiala

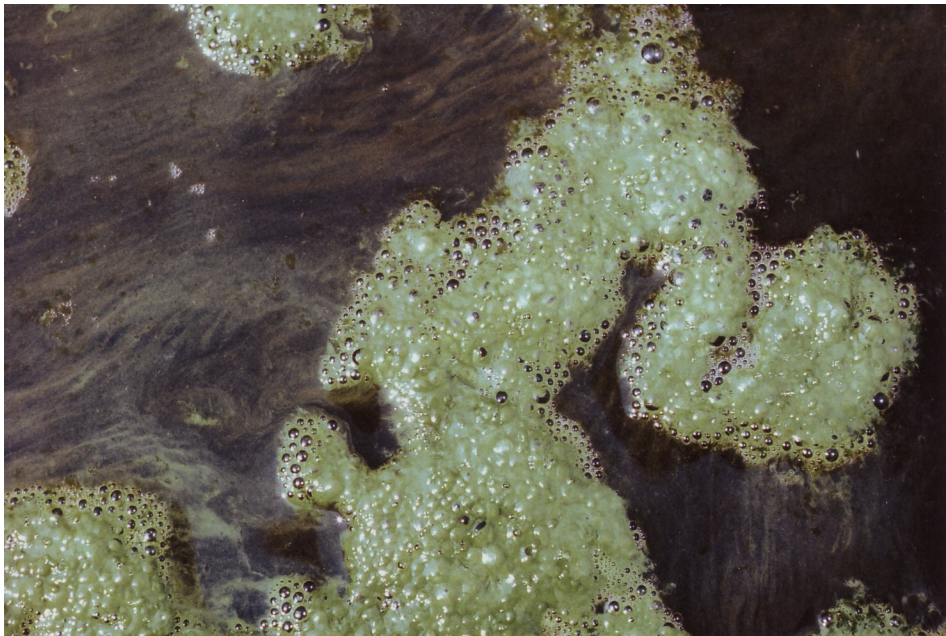


Cultura statica de *Spirulina platensis* in bazin exterior: a inceput dezvoltarea populatiei

Plansa 8

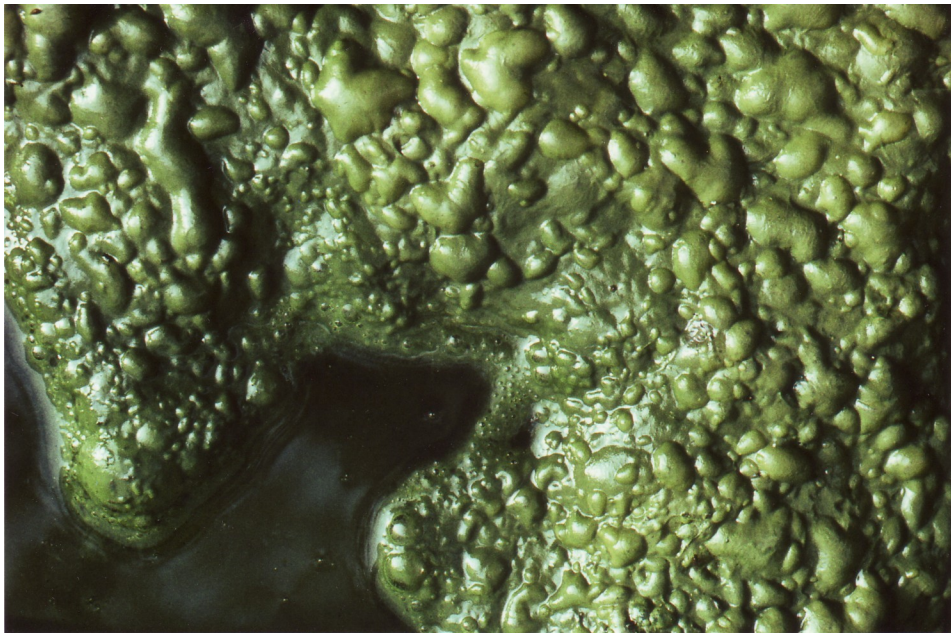


Cultura statica de *Spirulina platensis* in bazin exterior : se acumuleaza mai multa biomasa la suprafata mediului de crestere



Cultura statica de *Spirulina platensis* in bazin exterior : acumulari de biomasa la suprafata – detaliu

Plansa 9



Cultura statica de *Spirulina platensis* in bazin exterior : mase algale mari s-au ridicat la suprafata mediului de crestere; se observa bulele de oxigen produse in fotosinteza, prinse in structura acumularilor de biomasa



Cultura statica de *Spirulina platensis* in bazin exterior : consistenta acumularilor de biomasa

Plansa 10



Cultura statica de *Spirulina platensis* in bazin exterior poate fi periclitata de aparitia unor alge straine in apa din bazinul de crestere, inainte de introducerea nutrientilor : a aparut o populatie de *Haematococcus pluvialis*

Plansa 11