

Invenția se referă la biotehnologie și agricultură, în special la obținerea biostimulatorilor produși de cianobacterii pentru utilizare în agricultură și poate fi folosită în domeniul fitotehniei, și anume la cultivarea gramineelor, plantelor aromatice, leguminoaselor.

Este cunoscut un procedeu de obținere a unor biostimulatori utilizați în agricultură, care constă în cultivarea cianobacteriilor *Anabaena ambigua* pe mediul cultural BG11 fără nitrat și a *Oscillatoria foreaui* pe BG11 cu nitrat, la temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ și iluminarea fluorescentă de $40 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$. Culturile au fost cultivate în camera de creștere (ciclu 12/12 h lumină/întuneric). Agitarea culturilor a fost efectuată în fiecare zi pentru a reduce aglomerarea celulelor. Culturile au fost recoltate prin centrifugare la 11,424 g timp de 20 de minute în fazele exponențiale (a 16-a zi pentru *A. ambigua* și a 12-a zi pentru *O. foreaui*) [1].

Neajunsul acestui procedeu constă în faptul că mediul utilizat la cultivarea tulpinelor din care se obține filtratul este BG11, care e mai costisitor, deoarece conține mai multe săruri în componență, ducând la sporirea costului de producție a biostimulatorului.

Cel mai apropiat după esența tehnică și rezultatul obținut este un procedeu de obținere a biostimulatorilor care constă în cultivarea cianobacteriilor *Anabaena oryzae*, *Nostoc ellipsosporum* și *Synechococcus* sp. în colbe Erlenmeyer (500 ml), în care a fost adăugat 200 ml de mediu de cultură BG11. Inoculul inițial a fost de aproximativ 2×10^4 celule/ml din stocul culturii la sfârșitul fazei logaritmice (7 zile de la începutul cultivării). Colbele cu cultură au fost menținute la $28 \pm 1^\circ\text{C}$, la intensitatea luminii de $40 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$, timp de 21 de zile. Apoi culturile au fost centrifugate la 10000 rpm timp de 10 minute la 4°C , iar filtratul a fost supus dializei timp de 48 de ore pentru a elimina substanțele nutritive. Filtratul obținut a fost supus liofilizării la -45°C , resuspendat într-un volum de apă care constituie 10% din volumul inițial. Filtratele obținute în urma cultivării *Anabaena oryzae* conțin $0,71 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ de gibereline, *Nostoc ellipsosporum* - $1,08 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$, iar a *Synechococcus* sp. - $0,66 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ [2].

Dezavantajul acestui procedeu constă în conținutul mai diminuat în filtrat al giberelinelor care stimulează germinarea mai rapidă a semințelor și creșterea plantelor, de asemenea procedeul include dializa, ceea ce conduce la reducerea conținutului de substanțe bioactive, inclusiv gibereline, precum și liofilizarea care majorează costul biostimulatorului. Alt dezavantaj este utilizarea mediului BG11 care este mai costisitor și sporește costul biostimulatorului.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui procedeu de obținere a stimulatorilor de creștere a plantelor din cianobacterii care conțin cantități mai sporite de gibereline și pot fi utilizați în agricultură, și anume la germinarea semințelor și stimularea creșterii plantelor de cultură.

Esența invenției constă în faptul că se propune un procedeu de obținere a stimulatorilor de creștere a plantelor din cianobacterii, care include cultivarea cianobacteriei *Nostoc halophilum* pe mediul Drew sau a cianobacteriei *Spirulina platensis* pe mediul Zarrouk modificat ce conține, g/l: NaNO_3 2,25, NaHCO_3 8,0, NaCl 1,0, K_2SO_4 0,3, Na_2HPO_4 0,2, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2, CaCl_2 0,024, H_3BO_3 0,00286, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,00181, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,00008, MoO_3 0,000015, FeEDTA 1 ml/l, la temperatura de 28°C și iluminarea de 2500-3500 lx, timp de 20 de zile, separarea biomasei de lichidul cultural prin filtrare și diluarea filtratului de 2-3 și, respectiv, de 10-15 ori.

Rezultatul tehnic al invenției constă în obținerea stimulatorilor din cianobacterii *Nostoc halophilum* sau *Spirulina platensis* din filtrate care conțin cantități mai sporite de gibereline ($500 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ și respectiv $1100 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$), față de prototip (filtratele de *Anabaena oryzae* conțin $0,71 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ gibereline, de *Nostoc ellipsosporum* - $1,08 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$, iar de *Synechococcus* sp. - $0,66 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$).

Rezultatul tehnic al invenției este cauzat de prezența în stimulatorii propuși a giberelinelor și a aminoacizilor, precum și a altor substanțe biostimulatoare, care activează procesele metabolice din plante.

Tabel

Substanțele biologic active din stimulatorii obținuți

Stimulatorul cercetat	Substanțele biologic active din filtrat	
	Cantitatea giberelinelor, $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$	Aminoacizi mg/ml
Stimulator obținut din filtratul de la cultivarea <i>Nostoc halophilum</i>	500	0,074
Stimulator obținut din filtratul de la cultivarea <i>Spirulina platensis</i>	1100	0,065

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1

Cianobacteria *Nostoc halophilum* se cultivă pe mediul de cultivare Drew la iluminarea de 2500 lx și temperatura de 28°C în colbe conice Erlenmeyer de 500 ml. La a 20 zi de cultivare biomasa se colectează prin filtrare, iar filtratul rezidual este colectat și diluat de 2-3 ori. Stimulatorul dat conține cantități sporite de gibereline și aminoacizi și poate fi utilizat în domeniul agriculturii ecologice pentru creșterea plantelor de cultură. Stimulatorul poate fi utilizat de exemplu la cultivarea busuiocului roșu *Ocimum basilicum* var. *purpurascens* Benth. În rezultat biomasa recoltată sporește cu 22% față de plantele tratate cu apă. Utilizarea stimulatorului la încolțirea semințelor, de exemplu de porumb *Zea mays* L. contribuie la germinarea a 70% din semințe în comparație cu martorul tratat cu apă (60%).

Exemplul 2

Cianobacteria *Spirulina platensis* se cultivă timp de 20 zile pe mediul de cultivare Zarrouk modificat cu următoarea compoziție: NaNO₃ 2,25 g/l; NaHCO₃ 8,0 g/l; NaCl 1,0 g/l; K₂SO₄ 0,3 g/l; Na₂HPO₄ 0,2 g/l; MgSO₄·7 H₂O 0,2 g/l; CaCl₂ 0,024 g/l; soluția de microelemente 1 ml/l (H₃BO₃ 2,86 mg/l; MnCl₂·4H₂O 1,81 mg/l; CuSO₄·5H₂O 0,08 mg/l; MoO₃ 0,015 mg/l); FeEDTA 1ml/l, la iluminarea de 2500 lx și temperatura de 28°C în colbe conice Erlenmeyer de 500 ml. La a 20 zi de cultivare biomasa se colectează prin filtrare, iar filtratul rezidual este colectat și diluat de 10-15 ori.

Stimulatorul dat de asemenea conține cantități sporite de gibereline și aminoacizi și poate fi utilizat în domeniul agriculturii ecologice pentru creșterea plantelor de cultură. Stimulatorul poate fi utilizat, de exemplu, la cultivarea busuiocului roșu *Ocimum basilicum* var. *purpurascens*. În rezultat biomasa recoltată sporește cu 25% față de plantele tratate cu apă.

Utilizarea stimulatorului dat la încolțirea semințelor, de exemplu, de porumb *Zea mays* L. contribuie la germinarea a 80% din semințe în comparație cu proba martor tratată cu apă (60%).

Avantajele aplicării invenției constau în utilizarea unui deșeu de producere din biotehnologie, și anume din cultivarea cianobacteriilor și utilizarea lui rațională la obținerea stimulatorilor de creștere naturali care stimulează germinarea semințelor și sporesc producția plantelor de cultură. Stimulatorii propuși contribuie la dezvoltarea agriculturii ecologice și obținerea producției bio.