Ministerul Educației, Culturii și Cercetării al Republicii Moldova

Ministry of Education, Culture and Research of Republic of Moldova

Institutul de Microbiologie și Biotehnologie

Institute of Microbiology and biotechnology

SIMPOZION ȘTIINȚIFIC NAȚIONAL CU PARTICIPARE INTERNAȚIONALĂ :
BIOTEHNOLOGII MODERNE - SOLUȚII PENTRU PROVOCĂRILE LUMII CONTEMPORANE.
CHIȘINAU 2021, 20-21 MAI (*ONLINE*)

NATIONAL SCIENTIFIC SYMPOSIUM WITH INTERNATIONAL PARTICIPATION:
MODERN BIOTECHNOLOGIES – SOLUTIONS TO THE CHALLENGES OF THE CONTEMPORARY WORLD.
CHIȘINAU 2021, 20-21 MAI (*ONLINE*)

LUCRĂRILE SIMPOZIONULUI
SYMPOSIUM PROCEEDINGS

CHIȘINĂU, MOLDOVA
MAY, 20-21, 2021

CZU:606:504.06(082)=135.1=111
B 53

SIMPOZION ȘTIINȚIFIC NAȚIONAL CU PARTICIPARE INTERNAȚIONALĂ:
BIOTEHNOLOGII MODERNE - SOLUȚII PENTRU PROVOCĂRILE LUMII CONTEMPORANE.
CHIȘINAU 2021, 20-21 MAI (*ONLINE*)

NATIONAL SCIENTIFIC SYMPOSIUM WITH INTERNATIONAL PARTICIPATION:
MODERN BIOTECHNOLOGIES – SOLUTIONS TO THE CHALLENGES OF THE CONTEMPORARY WORLD.
CHIȘINAU 2021, 20-21 MAI (*ONLINE*)

https://doi.org/10.52757/imb21

Comitetul științific / Scientific program Committee:

CEPOI Liliana; RUDIC Valeriu; CORCIMARU Serghei; CHIRIAC Tatiana; POSTOLACHI Olga; RUDI Ludmila; RASTIMEȘINA Inna.

Comitetul organizatoric / Local Organizing Committee:

CHISELIȚA Oleg; MISCU Vera; IAȚCO Iulia; CHISELIȚA Natalia; BEȘLIU Alina; COVACI Iurie.

DESCRIEREA CIP A CAMEREI NAȚIONALE A CĂRȚII DIN REPUBLICA MOLDOVA
"Biotehnologii moderne – soluţii pentru provocările lumii contemporane", simpozion ştiinţific naţional cu participare internaţională online (2021 ; Chişinău). Simpozion ştiinţific naţional cu participare internaţională : Biotehnologii moderne – soluţii pentru provocările lumii contemporane = National scientific symposium with international participation: Modern biotechnologies – solutions to the challenges of the contemporary world, 20-21 mai 2021, Chişinău: Lucrările simpozionului / comitetul ştiinţific: Cepoi Liliana [et al.] ; comitetul organizatoric: Chiseliţa Oleg [et al.]. – Chişinău : S. n., 2021 (Tipogr. "Artpoligraf"). – 166 p. : fig., fig. color, tab.
Antetit.: Min. Educaţiei, Culturii şi Cercet. al Rep. Moldova, Inst. de Microbiologie şi Biotehnologie. – Texte, rez. : lb. rom., engl. – Referinţe bibliogr. la sfârşitul art. – 80 ex.
ISBN 978-9975-3498-7-1.

Tipărit la Tipografia Artpoligraf SRL

CUPRINS/CONTENT:

PROGRAM 9
PROGRAMME 12
Platforma / Platform:
BIOTEHNOLOGII MODERNE - SOLUȚII PENTRU PROTEJAREA ȘI REMEDIEREA MEDIULUI / MODERN BIOTECHNOLOGIES FOR PROTECTION AND REMEDIATION OF THE ENVIRONMENT 15
MICROBIOLOGICAL TOOLS FOR ASSESSMENT AND PREDICTION OF THE IMPACT OF SOIL MANAGEMENT ON SOIL ORGANIC MATTER IN MOLDOVAN CHERNOZEMS
Corcimaru S., Mereniuc L., Sîtnic F. 16
INFLUENȚA NANOMAGNETITEI ASUPRA PROCESELOR DE CREȘTERE ȘI DEZVOLTARE A SOII ȘI FORMĂRII SISTEMULUI RIZOBIO-RADICULAR ÎN CONDIȚIILE SOLULUI POLUAT CU POLIETILENA
Corcimaru S., Todiraș V., Prisacari S., Guțul T. 21
SCREENING OF LOW DENSITY POLYETHYLENE DEGRADING MICROORGANISMS
Rastimesina I., Postolachi O., Josan V., Cotoman A., Mamaliga V. 25
RĂSPUNSUL CIANOBACTERIEI *ARTHROSPIRA PLATENSIS* (SPIRULINA) LA PREZENȚA ÎN MEDIUL DE CULTIVARE A NANOPARTICULELOR DE Au ȘI Ag STABILIZATE CU POLIETILENGLICOL
Rudi L., Cepoi L., Chiriac T., Miscu V., Rudic V. 31
CONSIDERAȚII PRIVIND POTENȚIALUL BIOTEHNOLOGIC AL MICROBIOMLUI SOLULUI PENTRU DEZVOLTAREA AGRICULTURII DURABILE
Artiomov L., Frunze N. 39
INFLUENȚA ANTIOXIDANȚILOR DE ORIGINE VEGETALĂ ASUPRA INTEGRITĂȚII GAMETOGENEZEI ȘI SĂNĂTĂȚII BIODIVERSITĂȚII
Balan I., Roșca N., Buzan V., Cazacov I., Balacci S., Osipciuc G., Blîndu I, Crețu R., Bacu Gh. 40
PRESENCE OF *ACTINOBACTERIA* IN THE AQUATIC ECOSYSTEMS OF THE "LA IZVOR" LAKE SYSTEM IN THE CHISINAU CITY
Birsa M., Cebotari V., Burtseva S. 41
GRAPE POMACE AS A FILLER IN WINE VINEGAR FERMENTATION
Boiștean A. 42
EVALUATION OF THE COLOR AS A CHARACTERIZATION PARAMETER OF HONEY FROM TUNISIA, ROMANIA AND MOLDOVA
Boistean A., Chirsanova A., Capcanari T., Siminiuc R. 43
ROLUL ASOLAMENTELOR FURAJERO-CEREALIERE ÎN PROTEJAREA ȘI REMEDIEREA SOLULUI
Bolocan N., Darie V., Tonu N., Frunze N. 44
RECYCLING BIO-WASTE METHODS IN ORDER TO PROTECT THE ENVIRONMENT
Ceclu L., Nedelcu A., Roșca-Sadurschi L. 45
CHANGES IN BIOCHEMICAL COMPOSITION OF *PORPHYRIDIUM CRUENTUM* UPON EXPOSURE TO SILVER NANOPARTICLES
Cepoi L., Rudi L., Chiriac T., Valuta A., Miscu V., Rudic V. 46
THE SPECTRAL SHIFT OF *ARTHROSPIRA PLATENSIS* BIOMASS CULTIVATED IN THE PRESENCE OF SILVER NANOPARTICLES
Cepoi L., Djur S., Elenciuc D., Dumbraveanu V., Codreanu L., Doni V., Tasca V. 47
HELMINTOFAUNA ȘOARECELUI DE PAJIȘTE (*APODEMUS URALENSIS*, PALLAS 1771) DIN DIVERSE BIOTOPURI ALE REPUBLICII MOLDOVA
Chihai O. 48

INFLUENȚA LEVAMISOLULUI ASUPRA IMUNITĂȚII CELULARE ȘI UMORALE LA BOVINE
Chihai O. 49
CHANGES IN CARBOHYDRATE CONTENT IN SPIRULINA BIOMASS IN THE PRESENCE OF SILVER NANOPARTICLES
Chiriac T., Miscu V., Djur S., Dumbraveanu V., Codreanu L., Doni V., Iatco I. 50
THE ASSESSMENT OF COPPER, IRON, ZINC, AND NICKEL TOLERANCE COMBINED WITH *NOSTOC LINCKIA* BIOMASS PRODUCTION
Codreanu L. 51
BIOCARBURANȚII – OPORTUNITĂȚI DE VALORIFICARE A DEȘEURILOR DIN INDUSTRIA ALIMENTARĂ
Cojocaru C., Covaci E. 52
THE PERSPECTIVE OF USING SOIL MICROORGANISMS FOR DEGRADATION OF NON-RECYCLABLE PLASTIC WASTE
Coşcodan M. 53
MODERN APPROACHES IN AGRICULTURE FOR ENVIRONMENTAL PROTECTION AND THE ORIGIN OF PRODUCT QUALITY: THE USE OF BIOPESTICIDES
Daraban M. G., Zaharia C., Badeanu M. Suteu D. 54
IMPORTANȚA UTILIZĂRII ÎN AVICULTURĂ A ADITIVILOR FURAJERI MEDICINALI PENTRU PROTECȚIA MEDIULUI
Demcenco B., Balan I., Petcu I., Osadci N., Rosca F., Gramovici A. 55
ESTIMATION OF MALONDIALDEHYDE CONTENT IN *ARTHROSPIRA PLATENSIS* CNMN-CB-11 CULTIVATED IN THE PRESENCE OF INORGANIC SELENIUM (IV) COMPOUNDS
Djur S., Tasca I., Cepoi L., Rudic V. 56
HEAVY-METAL TOXICITY IN THE CYANOBACTERIUM *ANABAENA VARIABILIS*
Dudnicenco T. 57
THE INFLUENCE OF SOME MINERAL FERTILIZERS ON THE ACTIVITY OF THE CYANOBACTERIA *NOSTOC LINCKIA* AND *NOSTOC PUNCTIFORME*
Dudnicenco T. 58
POTENTIAL OF MICROORGANISMS IN THE REMEDIATION OF MULTIMETAL CONTAMINATED WASTEWATERS
Filote C., Roşca M., Hlihor R. M., Simion I. M. 59
SĂNĂTATEA SOLULUI – O NOUĂ PARADIGMĂ PENTRU DEZVOLTAREA AGRICULTURII DURABILE
Frunze N. 60
METAGENOMICA SOLULUI CA TEHNOLOGIE DE CUNOAȘTERE A PROCARIOTELOR NECULTIVABILE
Frunze N. 61
PROCEDEU INOVATIV DE MATURARE A PREPARATELOR DIN CARNE
Golubi R., Bogdan N. 62
BIOGAS AS A SOURCE OF RENEWABLE ENERGY OBTAINED FROM THE RECOVERY OF FOOD INDUSTRY WASTE
Guțu C., Covaci E. 63
CHALLENGES IN IDENTIFYING MICROBIAL BIOMASS SUITABLE FOR BIOSORPTION AND BIOACCUMULATION PROCESSES
Hlihor R. M., Roşca M., Simion I. M., Filote C., Cozma P., Apostol M., Favier L., Gavrilescu M. 64
PERSPECTIVES OF USING MICROBIOLOGICAL TECHNOLOGIES FOR ELIMINATION OF FOUL ODOR FROM BIOLOGICAL TREATMENT FACILITIES
Hlushen A., Chyrykava M., Hubchyk K. 65

ASPECTE APLICATIVE DE VALORIFICARE A PRODUSELOR SECUNDARE VINICOLE
Ipiroti N., Covaci E. 66
THE ASSESSMENT OF PHYTOTOXICITY OF SOIL POLLUTED WITH ORGANOCHLORINE PESTICIDES
Josan V., Rastimesina I., Postolachi O. 67
FUNCȚIONAREA BACTERIOPLANKTONULUI ÎN CONDIȚIILE ECOSISTEMULUI FLUVIULUI NISTRU (SECTORUL MOLDOVENESC)
Jurminskaia O., Negru M., Şubernețkii I. 68
MICROORGANISMS FOR BIOREMEDIATION OF OIL-CONTAMINATED SOILS
Klishevich N. G., Ananeva I. N., Aleschenkova Z. M. 69
TULPINI DE BACTERII CU EFECT NEMATOCID
Melnic M., Rusu Ş., Todiraş V., Lungu A., Slanina V. 70
BOALA CORONAVIRUS ȘI FACTORII CU RISC METABOLIC CRESCUT – PROBLEME ȘI SOLUȚII
Mereuță I., Tomșa A., Baciu A., Cebotari A., Fedaș V. 71
EFECTELE SINERGISMULUI PLANTE-MICROORGANISME PRIVIND FITOREMEDIEREA SOLURILOR POLUATE CU METALE GRELE
Minuț M., Roşca M., Cozma P., Diaconu M., Gavrilescu M. 72
EFFECT OF FULLERENE AND FULLERENE-CHITOSAN COMPLEX ON THE GROWTH, PEROXIDASE ACTIVITY AND CADMIUM TOLERANCE RESPONSES OF BARLEY SEEDLINGS
Molchan O., Kurnushko A., Podborskaya L., Rastimesina I. 73
DIVERSITATEA MICROMICETELOR DETERMINATE ÎN LACUL „LA IZVOR”
Moldovan C. 74
USING HALOTOLERANT BACTERIA TO STIMULATE PLANT GROWTH UNDER TECHNOGENIC SALINIZATION CONDITIONS
Naumovich N. I., Safronava H. V., Ananyeva I. N., Aleschenkova Z. M. 75
INFLUENCE OF NEW BIOACTIVE COMPOUNDS ON THE INTENSITY OF THE PROTEIN METABOLISM IN ANIMALS IN THE BLOOD SERUM UNDER PHYSIOLOGICAL CONDITIONS
Pantea V., Sardari V., Andronache L., Gamaniuc M., Gudumac V. 76
POULTRY IN THE CONTINUATION OF THE IMPROVEMENT OF BIOTECHNOLOGIES FOR OBTAINING PRODUCTS FROM THE FOOD INDUSTRY
Petcu I., Balan I., Demcenco B., Osadci N., Rosca F., Gramovici A. 77
ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS* ALGAL EXTRACTS DURING LIFE CYCLE
Plingau E. 78
SCREENING OF CULTIVATION MEDIA FOR LDPE BIODEGRADATION BY *PENICILLIUM VERRUCOSUM* CNM-FP-02
Postolachi O., Rastimesina I., Josan V., Mamaliga V., Cotoman A. 79
INFLUENȚA POLIETILENEI CU DENSITATE SCĂZUTĂ ASUPRA PRODUCTIVITĂȚII ȘI FORMĂRII NODOZITĂȚIILOR LA PLANTELE DE MĂZĂRICHE
Prisacari S., Corcimaru S., Todiraş V. 80
SCREENING OF LOW DENSITY POLYETHYLENE DEGRADING FUNGI
Rastimesina I., Postolachi O., Josan V., Cotoman A., Mamaliga V. 81
MICROBIOLOGICAL MECHANISMS OF THE REMOVAL OF ORGANIC POLLUTANTS FROM AQUEOUS SOLUTIONS
Roşca M., Hlihor R. M., Cozma P., Filote C., Simion I. M., Apostol M., Gavrilescu M. 82

INFLUENȚA POLUANȚILOR EXTERNI ASUPRA FUNCȚIONĂRII SISTEMULUI REPRODUCTIV
Roşca N., Balan I., Buzan V., Cazacov I., Balacci S., Blîndu I., Creţu R., Fiodorov N. 83
ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SPIRULINA BIOMASS UPON THE ACTION OF COPPER NANOPARTICLES COATED WITH POLYETHYLENE GLYCOL
Rotari I. 84
THE AGE OF *ARTHROSPIRA PLATENSIS* CULTURE AS DETERMINANT FACTOR RELATING TO NANOPARTICLES
Rudi L., Chiriac T., Cepoi L., Rotari I., Valuta A., Rotari M., Tasca I., Rudic V. 85
CHANGES IN MALONDIALDEHYDE CONTENT IN SPIRULINA BIOMASS IN THE PRESENCE OF GOLD NANOPARTICLES
Rudi L., Cepoi L., Chiriac T., Rotari I., Cepoi A., Djur S., Miscu V., Valuta A., Dumbraveanu V., Tasca V. 86
BIOACTIVE COORDINATIVE COMPOUNDS ACTION ON THE CARBOHYDRATE METABOLISM INDICES IN ANIMALS UNDER PHYSIOLOGICAL CONDITIONS
Sardari V., Pantea V., Popuşoi C., Gulea A., Gudumac V. 87
RHODOCOCCUS WRATISLAVIENSIS G13 AS A PERSPECTIVE AGENT FOR A RANGE OF MICROBIAL PREPARATIONS FOR THE BIOREMEDIATION OF NATURAL AND INDUSTRIAL ENVIRONMENTS
Shavela Y., Hlushen A., Chyrykava M. 88
CHALLENGES AND OPPORTUNITIES OF USING MEDICINAL PLANTS IN PHYTOREMEDIATION
Simion I. M., Hlihor R. M., Apostol M., Hagiu Zaleschi L., Asiminicesei D., Gavrilescu M. 89
ACTIVITATEA ANTIFUNGICĂ A MICROMICETELOR DUPĂ LIOFILIZARE ȘI CONSERVARE ÎN PREZENȚA NANOPARTICULELOR
Sîrbu T., Moldovan C., Ţurcan O., Timuş I., Gorincioi V. 90
MEDIUL ACVATIC – SURSĂ DE MICROORGANISME DE INTERES BIOTEHNOLOGIC
Sîrbu T., Moldovan C., Ţurcan O., Slanină V., Batîr L. 91
LIOFILIZAREA - METODĂ SIGURĂ DE CONSERVARE A MICROORGANISMELOR DE INTERES BIOTEHNOLOGIC
Sîrbu T., Moldovan C., Ţurcan O. 92
IZOLAREA ȘI EVALUAREA DIVERSITĂȚII BACTERIILOR DIN APA LACURILOR PARCULUI „LA IZVOR” 93
Slanina V., Balan (Batîr) L.
ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF A BACTERIUM FROM PETROLEUM SLUDGE
Stancu M. M. 94
CAPACITATEA UNOR TULPINI DE *ARTHROSPIRA PLATENSIS* DE A SINTETIZA NANOPARTICULE DE SELENIU
Taşcă I. 95
ABORDĂRI BIOTEHNOLOGICE PENTRU PROTECȚIA MEDIULUI: UTILIZAREA PLANTELOR AUTOHTONE PENTRU BIOREMEDIEREA SOLURILOR
POLUATE CU METALE GRELE
Vasilachi I. C., Asiminicesei D. M., Minuț M., Cozma P., Comăniță E.D., Hlihor R.M., Gavrilescu M. 96
PHTHALATE-DEGRADING BACTERIA OF THE FAMILY MICROCOCCACEAE, PERSPECTIVE FOR THE BIOREMEDIATION OF CONTAMINATED SOILS
Yastrebova O. V., Korsakova E. S., Plotnikova E. G. 97
METAL REMOVAL FROM ZINC-CONTAINING EFFLUENT USING TWO BIOLOGICAL SORBENTS
Zinicovscaia I. 98

Platforma / Platform:

PREPARATE MICROBIENE – ELABORARE ȘI PERSPECTIVA UTILIZĂRII / MICROBIAL PREPARATIONS – ELABORATION AND PERSPECTIVES 99

CERCETĂRI PRIVIND INFLUENȚA PREPARATULUI BIOLOGIC ACTIV DIN LEVURI ASUPRA PARAMETRILOR PRODUCTIVI ȘI DE REPRODUCȚIE LA SUINE
Carapirea A. 100

VIABILITATEA ȘI CARACTERELE MORFO-CULTURALE ALE *STREPTOMYCES CANOSUS* CNMN-Ac-02 DUPĂ LIOFILIZARE ÎN PREZENȚA GLICOZIDELOR IRIDOIDE
Chiseliță O., Burțeva S., Bîrsa M., Mașcenco N. 104

INFLUENȚA BIOPREPARATELOR CIANOBACTERIENE ASUPRA SPERMATOGENEZEI LA VIERI
Cibotaru E., Chiseliță O., Matvienco N., Savca D., Djenjera I. 111

INFLUENȚA EXTRACTULUI MANOPROTEIC DIN LEVURILE DE BERE ASUPRA CONSERVĂRII MATERIALULUI SEMINAL DE BERBEC
Rotari D., Darie G., Chiseliță O., Djenjera I., Bradu N., Chiseliță N., Beşliu A. 116

ACTIVITATEA ANTIFUNGICĂ A MICROMICETELOR DUPĂ PĂSTRARE ÎN STARE LIOFILIZATĂ IN DEPENDENȚĂ DE MEDIUL DE REHIDRATARE
Timuș I. 122

BIOPREPARATION PHENOFORM FOR THE PURIFICATION OF AQUEOUS SOLUTIONS FROM PHENOL AND FORMALDEHYDE: CREATION AND PERSPECTIVES OF APPLICATION
Aliashkevich I., Hlushen A., Chyrykava M. 128

MODIFICAREA CONȚINUTULUI DE PROTEINE ȘI CARBOHIDRAȚI ÎN BIOMASA LEVURILOR LIOFILIZATE ÎN PREZENȚA EXTRACTELOR DIN SPIRULINĂ
Balan (Batîr) Ludmila, Slanina Valerina 129

EFFICIENCY OF THE METHODS FOR EXTRACTING MANOPROTEINS FROM BEER YEAST SEDIMENTS
Beşliu A., Chiseliță N., Chiseliță O., Efremova N., Tofan E., Lozan A., Daniliș M. 130

INFLUENȚA POLIZAHARIDELOR DE ORIGINE CIANOBACTERIANĂ ASUPRA VIABILITĂȚII TULPINII *STREPTOMYCES CANOSUS* CNMN-Ac-02 DUPĂ LIOFILIZARE ȘI PĂSTRARE ÎNDELUNGATĂ
Bîrsa M., Chiseliță O., Burțeva S., Rudic V. 131

PROBIOTIC PROPERTIES OF *ENTEROCOCCUS FAECIUM* SPECIES WHICH CONTRIBUTE TO INTESTINAL MICROFLORA BALANCE
Bogdan V., Vrabie V. 132

ENZYMATIC SYNTHESIS OF FAVIPIRAVIR RIBOSIDE USING RECOMBINANT PURINE NUCLEOSIDE PHOSPHORYLASE
Bulatovski A., Zinchenko A. 133

VIABILITATEA TULPINII *STREPTOMYCES CANOSUS* CNMN-Ac-02 DUPĂ LIOFILIZARE ÎN PREZENȚA GLICOZIDELOR FLAVONOIDE
Burțeva S., Chiseliță O., Bîrsa M., Mașcenco N. 134

EFICIENȚA UTILIZĂRII PRO/PREBIOTICULUI *PoultryStarRmeEU* ÎN AVICULTURĂ ȘI CULTIVAREA PORUMBULUI
Caraman M., Moscalic R., Cremeneac L., Efteniuc I. 135

DINAMICA MICROORGANISMELOR ÎN DEJECȚIILE IEPURILOR HRĂNIȚI CU NUTREȚ COMBINAT GRANULAT CU ADAOSUL BIOMASEI DE *Streptomyces levoris* CNMN-Ac-01
Caraman M., Moscalic R., Cremeneac L., Efteniuc I., Burțeva S. 136

THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE YEAST BIOMASS FROM THE BEER INDUSTRY WASTE
Chiseliţa O., Chiseliţa N., Beşliu A., Efremova N., Tofan E., Lozan A., Daniliş M. 137
INFLUIENȚA NANOPARTICULELOR OXIZILOR METALICI ASUPRA SPECTRULUI POLIPEPTIDIC A PREPARATELOR ENZIMATICE OBȚINUTE CU TULPINI DE FUNGI MICELIALI DIN GENURILE *TRICHODERMA, FUSARIUM, RHIZOPUS, ASPERGILLUS* ÎN CULTURĂ SUBMERSĂ
Ciloci A., Bivol C., Clapco S., Tiurina J., Dvornina E.., Labliiuc S. 138
INFLUIENȚA NANOPARTICULELOR DIOXIDULUI DE TITAN ASUPRA ÎNSUȘIRILOR FIZICO-CHIMICE ȘI CATALITICE ALE LIPAZELOR EXOCELULARE SINTETIZATE DE TULPINA *ASPERGILLUS NIGER* CNMN FD 01 LA CULTIVARE ÎN PROFUNZIME
Ciloci A., Clapco S., Tiurina J., Dvornina E., Labliuc S. 139
ANTAGONISMUL BACTERIEI *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* ÎN CADRUL CONTROLULUI BIOLOGIC AL BACTERIOZEI CULTURII NUCIFERE
Crucean Ș. 140
EFFECT OF FEED ADDITIVE POLYACT ON IMMUNE STATUS OF BROILER CHICKENS
Kulish S., Prusakova A., Sapunova L. Tamkovich I. 141
PCR ANALYSIS OF PHENAZINE OPERON TRANSCRIPTIONAL REGULATION IN *PSEUDOMONAS CHLORORAPHIS* SUBSP. *AURANTIACA*
Liaudanskaya A. I., Verameyenka K. G., Maximova Natalia P. 142
BIOSYNTHESIS OF POLYENE ANTIBIOTICS AND PHYTOHORMONES UNDER THE ACTION OF EXOGENOUS B-SITOSTEROL BY SOIL STREPTOMYCETE *STREPTOMYCES NETROPSIS* IMV Ac-5025
Loboda M.I., Biliavska L.O. 143
PERSPECTIVA UTILIZĂRII ÎN SPAȚII PROTEJATE A *SACCHAROPOLYSPORA SPINOSA* PENTRU PROTECȚIA CULTURII DE CASTRAVEȚI DE DĂUNĂTORI
Lungu A. 144
UTILIZAREA BIOPREPARATELOR ÎN BAZĂ DE *TRICHODERMA* PENTRU PROTECȚIA VARZEI DE BACTERIOZA VASCULARĂ
Lungu A., Șcerbacova T. 145
ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE TANNINS ISOLATED FROM WALNUT (*JUGLANS REGIA* L.)
Lupascu L., Timbaliuc N., Lupascu T., Slanina V. 146
STUDY OF THE ABSORPTION OF *BACILLUS SUBTILIS* AND *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* ON ACTIVATED CHARCOAL OBTAINED FROM APRICOT HUSKS
Lupaşcu L., Petuhov O., Lupaşcu T., Slanina V., Chiselita O. 147
EFECTUL TRATĂRII GĂINILOR OUĂTOARE ÎN PRIMA FAZĂ TEHNOLOGICĂ DE OUAT CU ZooBioR ASUPRA PRODUCTIVITĂŢII ŞI CALITĂŢII CĂRNII
Macari V., Pistol Gh., Fanari I., Putin V., Rotaru A., Rotari L., Pavlicenco N. 148
INFLUENȚA REMEDIULUI ZooBioR ASUPRA STĂRII FUNCȚIONALE A FICATULUI, PRODUCȚIEI ȘI CALITĂȚII OUĂLOR DE GĂINĂ ÎN PRIMA FAZĂ TEHNOLOGICĂ DE OUAT
Macari V., Gudumac V., Rotari L., Pistol Gh., Putin V., Rotaru A., Pantea V. 149
REMEDIUL BioR – MEDICAMENT EFICIENT ÎN AMELIORAREA POTENȚIALULUI REPRODUCTIV LA IEPUROAICE
Maţencu D., Macari V., Rotari A., Didoruc S. 150

INFLUENȚA pH - ULUI MEDIULUI NUTRITIV ASUPRA CREȘTERII ȘI DEZVOLTĂRII TULPINII DE FUNGI *BEAUVERIA BASSIANA* CNMN-FE-01
Moldovan A., Munteanu - Molotievskiy N., Toderaș I. 151
A YEAST STRAIN ADAPTED TO SELENIUM AS A PROMISING SOURCE OF SELENIUM FODDER ADDITIVES
Moroz I., Pavlyuk A., Sapunova L. 152
SCREENING OF GLYCOL ETHER DESTRUCTING MICROORGANISMS AS AN INITIAL STEP IN THE DEVELOPMENT OF A MICROBIAL PREPARATION FOR SOLVENT WASTEWATER TREATMENT
Narkevich D., Hlushen A., Kuchura A. 153
PERSPECTIVES FOR THE USE OF THE AUTOCHTHONOUS ZooBioR REMEDY IN POULTRY
Pistol Gh. 154
CHARACTERIZATION, IDENTIFICATION OF A BACTERIAL CULTURE ISOLATED FROM GRAIN AND ITS APPLICATION FOR FERMENTATION OF SOYBEAN CAKE
Sapunova L., Yarkhova L., Gorban V. 155
EFFECT OF ETHANOL ON PROPERTIES OF GLUCOSE OXIDASE OF *PENICILLIUM ADAMETZII*
Semashko T.V., Ustsinovich S.E., Zhukouskaya L.A. 156
LOCAL ISOLATES OF ENTOMOPATHOGENIC BACULOVIRUS AS A SPECIFIC, SAFE, AND EFFECTIVE TOOL FOR *HYPHANTRIA CUNEA* DRURY
Stingaci A., Volosciuc L. 157
ANTAGONISMUL NOILOR IZOLAȚI DE CIUPERCI DIN GENUL *TRICHODERMA* ÎN RAPORT CU ANGENTUL PATOGEN *ALTERNARIA* SP.
Şcerbacova T., Crucean Ş. 158
THE BEER YEAST BIOMASS AS A VALUABLE SOURCE OF LIPIDS
Tofan E., Chiseliţa N., Chiseliţa O., Beşliu A., Efremova N., Lozan A., Daniliş M. 159
INFLUENȚA UNOR COMPUȘI COORDINATIVI AI Cu(II) ȘI INTENSITĂȚII LUMINII ASUPRA CONȚINUTULUI DE EXOPOLIZAHARIDE SULFATATE PRODUSE DE CIANOBACTERIA *SPIRULINA PLATENSIS*
Ţurcan O. 160
ELABORAREA PREPARATULUI BACULOVIRAL VIRIN-HS-P PENTRU COMBATEREA *HELICOVERPA ARMIGERA* LA TOMATE
Zavtoni P., Volosciuc L. 161
FUNGI AS POTENTIAL PRODUCERS OF CHOLESTEROL OXIDASES
Zhukouskaya L.A., Semashko T.V., Muntsianava M.V. 162
ENZYMATIC SYNTHESIS OF 6-THIO-2′-DEOXYGUANOSINE AND ITS PHOSPHATIDYL DERIVATIVE
Vinter M., Bulatovski A., Birichevskaya L., Zinchenko A. 163

PROGRAM GENERAL

20 mai, JOI	
10.00 – 10.30	*Conectarea Participanţilor*
10.30 – 11.00	*Deschiderea Simpozionului. Cuvânt de salut*
11.00 – 13.00	*Audierea rapoartelor*
13.00 – 13.30	*Pauză*
13.30 – 15.30	*Audierea rapoartelor*
21 mai, VINERI	
10.00 – 12.30	*Audierea rapoartelor*
12.30 – 13.00	*Pauză*
13.00 – 16.00	*Audierea rapoartelor*
16.00 – 16.15	*Închiderea Simpozionului*

PROGRAM ZILNIC

20 may, JOI
meet.google.com/tam-uexb-ihv

10.00 – 10.30	**Conectarea Participanţilor**
10.30 – 11.00	**Deschiderea Simpozionului. Cuvânt de salut**
11.00–13.00	Audierea rapoartelor: **MICROBIOLOGICAL TOOLS FOR ASSESSMENT AND PREDICTION OF THE IMPACT OF SOIL MANAGEMENT ON SOIL ORGANIC MATTER IN MOLDOVAN CHERNOZEMS.** Corcimaru Serghei, Mereniuc Lilia, Sîtnic Feodora, *Institute of Microbiology and Biotechnology, Republic of Moldova* **METAL REMOVAL FROM ZINC-CONTAINING EFFLUENT USING TWO BIOLOGICAL SORBENTS.** Zinicovscaia Inga, *Joint Institute for Nuclear Research, Joliot-Curie, Russia, Horia Holubei National Institute for R&D in Physics and Nuclear Engineering (IFIN-HH), Romania.* **POTENTIAL OF MICROORGANISMS IN THE REMEDIATION OF MULTIMETAL CONTAMINATED WASTEWATERS.** Filote Cătălina, Roşca Mihaela, Hlihor Raluca Maria, Simion Isabela Maria, *"Ion Ionescu de la Brad" University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Iasi, Romania and "Gheorghe Asachi" Technical University of Iasi, Romania.* **MICROBIOLOGICAL MECHANISMS OF THE REMOVAL OF ORGANIC POLLUTANTS FROM AQUEOUS SOLUTIONS.** Roşca Mihaela, Hlihor Raluca-Maria, Cozma Petronela, Filote Cătălina, Simion Isabela-Maria, Apostol Maria, Gavrilescu Maria, *"Ion Ionescu de la Brad" University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Iasi, Romania, "Gheorghe Asachi" Technical University of Iasi, "Romania and Academy of Romanian Scientists, Bucharest, Romania.* **INFLUENŢA NANOMAGNETITEI ASUPRA PROCESELOR DE CREŞTERE ŞI DEZVOLTARE A SOII ŞI FORMĂRII SISTEMULUI RIZOBIO-RADICULAR ÎN CONDIŢIILE SOLULUI POLUAT CU POLIETILENA.** Corcimaru Serghei, Todiras Vasile, Prisacari Svetlana, Guţul Tatiana, *Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, Republica Moldova, Institutul de Inginerie Electronică şi Nanotehnologii „D.Ghiţu", Republica Moldova.* **EFFICIENCY OF THE METHODS FOR EXTRACTING MANOPROTEINS FROM BEER YEAST SEDIMENTS,** Beşliu Alina, Chiseliţa Natalia, Chiseliţa Oleg, Efremova Nadejda, Tofan Elena, Lozan Ana, Daniliş Marina, *Institute of Microbiology and Biotechnology, Republic of Moldova.* **INFLUENŢA POLIZAHARIDELOR DE ORIGINE CIANOBACTERIANĂ ASUPRA VIABILITĂŢII TULPINII *STREPTOMYCES CANOSUS* CNMN-Ac-02 DUPĂ LIOFILIZARE ŞI PĂSTRARE ÎNDELUNGATĂ.** Bîrsa Maxim, Chiseliţa Oleg, Burţeva Svetlana, Rudic Valeriu, *Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, Republica Moldova.* **INFLUENŢA EXTRACTULUI MANOPROTEIC DIN LEVURILE DE BERE ASUPRA CONSERVĂRII MATERIALULUI SEMINAL DE BERBEC.** Rotari Doina, Darie Grigore, Chiseliţa Oleg, Djenjera Irina, Bradu Nina, Chiseliţa Natalia, Beşliu Alina, *Institutul Stiintifico Practic de Biotehnologii în Zootehnie şi Medicină Veterinară, Republica Moldova, Institutul de Microbiologie si Biotehnologie, Republica Moldova.* **INFLUENŢA BIOPREPARATELOR CIANOBACTERIENE ASUPRA SPERMATOGENEZEI LA VIERI.** Cibotaru Elena, Chiseliţa Oleg, Matvienco Natalia, Savca Diana, Djenjera Irina, *Universitatea Agrară de Stat din Moldova, Institul Stiinţifico-Practic de Biotehnologii în Zootehnie şi Medicină Veterinară, Republica Moldova, Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, Republica Moldova.* **ACTIVITATEA ANTIFUNGICĂ A MICROMICETELOR DUPĂ PĂSTRARE ÎN STARE LIOFILIZATĂ IN DEPENDENŢĂ DE MEDIUL DE REHIDRATARE.** Timus Ion, *Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, Republica Moldova.*
13.00 –13.30	Pauză

13.30 –15.30	Audierea rapoartelor: **SCREENING OF LOW DENSITY POLYETHYLENE DEGRADING FUNGI.** Rastimesina Inna, Postolachi Olga, Josan Valentina, Cotoman Alina, Mamaliga Vera**,** *Institute of Microbiology and Biotechnology, Republic of Moldova.* **SCREENING OF CULTIVATION MEDIA FOR LDPE BIODEGRADATION BY *PENICILLIUM VERRUCOSUM* CNM-FP-02.** Postolachi Olga, Rastimesina Inna, Josan Valentina, Mamaliga Vera, Cotoman Alina**,** *Institute of Microbiology and Biotechnology, Republic of Moldova* **PRESENCE OF *ACTINOBACTERIA* IN THE AQUATIC ECOSYSTEMS OF THE "LA IZVOR" LAKE SYSTEM IN THE CHISINAU CITY.** Birsa Maxim, Cebotari Victoria, Burtseva Svetlana, *Institute of Microbiology and Biotechnology, Republic of Moldova*. **GRAPE POMACE AS A FILLER IN WINE VINEGAR FERMENTATION.** Boiștean Alina, *Technical University of Moldova, Republic of Moldova.* **EVALUATION OF THE COLOR AS A CHARACTERIZATION PARAMETER OF HONEY FROM TUNISIA, ROMANIA AND MOLDOVA.** Boistean Alina, Chirsanova Aurica, Capcanari Tatiana, Siminiuc Rodica, *Technical University of Moldova, Republic of Moldova.* **THE ASSESSMENT OF COPPER, *IRON, ZINC*, AND NICKEL TOLERANCE COMBINED WITH *NOSTOC LINCKIA* BIOMASS PRODUCTION.** *Codreanu Liviu*, *Institute of Microbiology and Biotechnology, Republic of Moldova*. **THE ASSESSMENT OF PHYTOTOXICITY OF SOIL POLLUTED WITH ORGANOCHLORINE PESTICIDES.** Josan Valentina, Rastimesina Inna, Postolachi Olga, *Institute of Microbiology and Biotechnology, Republic of Moldova.* **SCREENING OF GLYCOL ETHER DESTRUCTING MICROORGANISMS AS AN INITIAL STEP IN THE DEVELOPMENT OF A MICROBIAL PREPARATION FOR SOLVENT WASTEWATER TREATMENT.** Narkevich Darya, Hlushen Alena, Kuchura Anastasiya, *Institute of Microbiology, National Academy of Sciences, Belarus*. **LOCAL ISOLATES OF ENTOMOPATHOGENIC BACULOVIRUS AS A SPECIFIC, SAFE, AND EFFECTIVE TOOL FOR *HYPHANTRIA CUNEA* DRURY.** Stingaci Aurelia, Volosciuc Leonid, *Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection, Republic of Moldova.* **THE BEER YEAST BIOMASS AS A VALUABLE SOURCE OF LIPIDS.** Tofan Elena, Chiseliță Natalia, Chiseliță Oleg, Beșliu Alina, Efremova Nadejda, Lozan Ana, Daniliș Marina, *Institute of Microbiology and Biotechnology, Republic of Moldova.*
21 may, VINERI meet.google.com/xng-frmt-gun	
10.00–12.30	Audierea rapoartelor: **ESTIMATION OF *MALONDIALDEHYDE CONTENT* IN *ARTHROSPIRA PLATENSIS* CNMN-CB-11 *CULTIVATED IN THE PRESENCE* OF INORGANIC *SELENIUM* (*IV*) *COMPOUNDS*.** Djur Svetlana, Tasca Ion, Cepoi Liliana, Rudic Valeriu**,** *Institute of Microbiology and Biotechnology, Republic of Moldova.* **BIOCARBURANȚII – OPORTUNITĂȚI DE VALORIFICARE A DEȘEURILOR DIN INDUSTRIA ALIMENTARĂ.** Cojocaru Carolina, Covaci Ecaterina, *Universitatea Tehnică a Moldovei, Republica Moldova.* **ENZYMATIC SYNTHESIS OF 6-THIO-2′-DEOXYGUANOSINE AND ITS PHOSPHATIDYL DERIVATIVE.** Vinter Marharyta, Bulatovski Alexey, Birichevskaya Larisa, Zinchenko Anatoli, *Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus.* **BIOGAS AS A SOURCE OF RENEWABLE ENERGY OBTAINED FROM THE RECOVERY OF FOOD INDUSTRY WASTE.** Gutu Crina, Covaci Ecaterina, *Technical University of Moldova, Republic of Moldova*. **ASPECTE APLICATIVE DE VALORIFICARE A PRODUSELOR SECUNDARE VINICOLE.** Ipiroti Nicoleta, Covaci Ecaterina, *Universitatea Tehnică a Moldovei*, *Republica Moldova.* **MODERN APPROACHES IN AGRICULTURE FOR ENVIRONMENTAL PROTECTION AND THE ORIGIN OF PRODUCT QUALITY: THE USE OF BIOPESTICIDES.** Daraban Mihaita Gabriel, Zaharia Carmen, Badeanu Marinela and Suteu Daniela , *"Gheorghe Asachi" Technical University of Iasi-Romania and "Ion Ionescu de la Brad" University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Iasi, Romania.* **PROCEDEU INOVATIV DE MATURARE A PREPARATELOR DIN CARNE.** Golubi Roman, Bogdan Nina, *Institutul Ştiinţifico-Practic de Horticultură şi Tehnologii Alimentare, Republica Moldova.* **SĂNĂTATEA SOLULUI – O NOUĂ PARADIGMĂ PENTRU DEZVOLTAREA AGRICULTURII DURABILE**. Frunze Nina, *Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, Republica Moldova.*

	ROLUL ASOLAMENTELOR FURAJERO-CEREALIERE ÎN PROTEJAREA ŞI REMEDIEREA SOLULUI. Bolocan Nistor, Darie Valerian, Tonu Nicolae, Frunze Nina, *Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, Republica Moldova.* **INFLUENCE OF NEW BIOACTIVE COMPOUNDS ON THE INTENSITY OF THE PROTEIN METABOLISM IN ANIMALS IN THE BLOOD SERUM UNDER PHYSIOLOGICAL CONDITIONS.** Pantea Valeriana, Sardari Veronica, Andronache Lilia, Gamaniuc Marina, Gudumac Valentin, *State University of Medicine and Pharmacy Nicolae Testemitanu, Republic of Moldova*. **BIOACTIVE COORDINATIVE COMPOUNDS ACTION ON THE CARBOHYDRATE METABOLISM INDICES IN ANIMALS UNDER PHYSIOLOGICAL CONDITIONS.** Sardari Veronica, Pantea Valeriana, Cristina Popuşoi, Gulea Aurelian, Gudumac Valentin, *State University of Medicine and Pharmacy Nicolae Testemitanu, Republic of Moldova*. **REMEDIUL BioR – MEDICAMENT EFICIENT ÎN AMELIORAREA POTENŢIALULUI REPRODUCTIV LA IEPUROAICE.** Maţencu D., Macari V., Rotari A., Didoruc S., *Universitatea Agrară de Stat din Moldova.*
12.30 –13.00	Pauză
13.00–16.00	Audierea rapoartelor: **CHALLENGES IN IDENTIFYING MICROBIAL BIOMASS SUITABLE FOR BIOSORPTION AND BIOACCUMULATION PROCESSES.** Hlihor Raluca Maria, Roşca Mihaela, Simion Isabela-Maria, Filote Cătălina, Cozma Petronela, Apostol Maria, Favier Lidia, Gavrilescu Maria,*"Ion Ionescu de la Brad" University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Iasi, "Gheorghe Asachi" Technical University of Iasi, Univ Rennes, Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes, France and Academy of Romanian Scientists, Romania.* **EFECTELE SINERGISMULUI PLANTE-MICROORGANISME PRIVIND FITOREMEDIEREA SOLURILOR POLUATE CU METALE GRELE.** Minuţ Mariana, Roşca Mihaela, Cozma Petronela, Diaconu Mariana, Gavrilescu Maria, *Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iaşi, Universitatea de Ştiinţe Agricole şi Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad" din Iaşi, Academia Oamenilor de Ştiinţă din Romania, Bucuresti, România.* **CHALLENGES AND OPPORTUNITIES OF USING MEDICINAL PLANTS IN PHYTOREMEDIATION.** Simion Isabela-Maria, Hlihor Raluca Maria, Apostol Maria, Hagiu Zaleschi Laura, Asiminicesei Dana, Gavrilescu Maria, *"Ion Ionescu de la Brad" University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Iasi, "Gheorghe Asachi" Technical University of Iasi, Academy of Romanian Scientists, Bucharest, Romania*. **INFLUENŢA REMEDIULUI ZooBioR ASUPRA STĂRII FUNCŢIONALE A FICATULUI, PRODUCŢIEI ŞI CALITĂŢII OUĂLOR DE GĂINĂ ÎN PRIMA FAZĂ TEHNOLOGICĂ DE OUAT.** Macari V., Gudumac V., Rotari L., Pistol Gh[1], Putin V., Rotaru A., Pantea V., *Univesitatea Agrară de Stat din Moldova, Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie „Nicolae Testemiţanu", Republica Moldova.* **ABORDĂRI BIOTEHNOLOGICE PENTRU PROTECŢIA MEDIULUI: UTILIZAREA PLANTELOR AUTOHTONE PENTRU BIOREMEDIEREA SOLURILOR POLUATE CU METALE GRELE.** Vasilachi Ionela Cătălina, Asiminicesei Dana Mihaela, Minuţ Mariana, Cozma Petronela, Comăniţă Elena-Diana, Hlihor Raluca Maria, Gavrilescu Maria, *Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iaşi, Universitatea de Ştiinţe Agricole şi Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad"din Iaşi, Academia Oamenilor de Ştiinţă din România, Bucureşti, România*. **ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF A BACTERIUM FROM PETROLEUM SLUDGE.** Stancu Mihaela Marilena, *Institute of Biology Bucharest of Romanian Academy, Romania.* ***RHODOCOCCUS WRATISLAVIENSIS* G13 AS A PERSPECTIVE AGENT FOR A RANGE OF MICROBIAL PREPARATIONS FOR THE BIOREMEDIATION OF NATURAL AND INDUSTRIAL ENVIRONMENTS.** Shavela Yuliya, Hlushen Alena, Chyrykava Marharyta, *Institute of Microbiology, National Academy of Sciences, Belarus*. **INFLUENŢA UNOR COMPUŞI COORDINATIVI AI Cu(II) ŞI INTENSITĂŢII LUMINII ASUPRA CONŢINUTULUI DE EXOPOLIZAHARIDE SULFATATE PRODUSE DE CIANOBACTERIA *SPIRULINA PLATENSIS*.** Ţurcan Olga, *Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, Republica Moldova.* **ELABORAREA PREPARATULUI BACULOVIRAL VIRIN-HS-P PENTRU COMBATEREA *HELICOVERPA ARMIGERA* LA TOMATE.** Zavtoni Pantelimon, Volosciuc Leonid, *Institutul de Genetică, Fiziologie şi Protecţie a Plantelor, Republica Moldova.* **DIVERSITATEA MICROMICETELOR DETERMINATE ÎN LACUL „LA IZVOR".** Moldovan Cristina, *Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, Republica Moldova.* **LIOFILIZAREA - METODĂ SIGURĂ DE CONSERVARE A MICROORGANISMELOR DE INTERES BIOTEHNOLOGIC.** Sîrbu Tamara, Moldovan Cristina, Ţurcan Olga, *Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, Republica Moldova*.
16.00 – 16.30	*Închiderea Simpozionului*

PROGRAM OVERVIEW

May 20, THURSDAY	
10.00 – 10.30	*Connection of the participants*
10.30 – 11.00	*Opening ceremony, welcoming speech*
11.00 – 13.00	*Presentations*
13.00 – 13.30	*Pause*
13.30 – 15.30	*Presentations*
May 21, FRIDAY	
10.00 – 12.30	*Presentations*
12.30 – 13.00	*Pause*
13.00 – 16.00	*Presentations*
16.00 – 16.15	*Closing ceremony*

DAILY PROGRAM

May 20, THURSDAY
meet.google.com/tam-uexb-ihv

10.00 – 10.30	**Connection of the participants**
10.30 – 11.00	**Opening ceremony, welcoming speech**
11.00–13.00	Presentations: **MICROBIOLOGICAL TOOLS FOR ASSESSMENT AND PREDICTION OF THE IMPACT OF SOIL MANAGEMENT ON SOIL ORGANIC MATTER IN MOLDOVAN CHERNOZEMS.** Corcimaru Serghei, Mereniuc Lilia, Sîtnic Feodora, *Institute of Microbiology and Biotechnology, Republic of Moldova* **METAL REMOVAL FROM ZINC-CONTAINING EFFLUENT USING TWO BIOLOGICAL SORBENTS.** Zinicovscaia Inga, *Joint Institute for Nuclear Research, Joliot-Curie, Russia, Horia Holubei National Institute for R&D in Physics and Nuclear Engineering (IFIN-HH), Romania.* **POTENTIAL OF MICROORGANISMS IN THE REMEDIATION OF MULTIMETAL CONTAMINATED WASTEWATERS.** Filote Cătălina, Roșca Mihaela, Hlihor Raluca Maria, Simion Isabela Maria, *"Ion Ionescu de la Brad" University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Iasi, Romania and "Gheorghe Asachi" Technical University of Iasi, Romania.* **MICROBIOLOGICAL MECHANISMS OF THE REMOVAL OF ORGANIC POLLUTANTS FROM AQUEOUS SOLUTIONS.** Roșca Mihaela, Hlihor Raluca-Maria, Cozma Petronela, Filote Cătălina, Simion Isabela-Maria, Apostol Maria, Gavrilescu Maria, *"Ion Ionescu de la Brad" University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Iasi, Romania, "Gheorghe Asachi" Technical University of Iasi, "Romania and Academy of Romanian Scientists, Bucharest, Romania.* **INFLUENȚA NANOMAGNETITEI ASUPRA PROCESELOR DE CREȘTERE ȘI DEZVOLTARE A SOII ȘI FORMĂRII SISTEMULUI RIZOBIO-RADICULAR ÎN CONDIȚIILE SOLULUI POLUAT CU POLIETILENA.** Corcimaru Serghei, Todiraș Vasile, Prisacari Svetlana, Guțul Tatiana, *Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Republica Moldova, Institutul de Inginerie Electronică și Nanotehnologii „D.Ghițu", Republica Moldova.* **EFFICIENCY OF THE METHODS FOR EXTRACTING MANOPROTEINS FROM BEER YEAST SEDIMENTS,** Beșliu Alina, Chiselița Natalia, Chiselița Oleg, Efremova Nadejda, Tofan Elena, Lozan Ana, Daniliș Marina, *Institute of Microbiology and Biotechnology, Republic of Moldova.* **INFLUENȚA POLIZAHARIDELOR DE ORIGINE CIANOBACTERIANĂ ASUPRA VIABILITĂȚII TULPINII *STREPTOMYCES CANOSUS* CNMN-Ac-02 DUPĂ LIOFILIZARE ȘI PĂSTRARE ÎNDELUNGATĂ.** Bîrsa Maxim, Chiselița Oleg, Burțeva Svetlana, Rudic Valeriu, *Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Republica Moldova*. **INFLUENȚA EXTRACTULUI MANOPROTEIC DIN LEVURILE DE BERE ASUPRA CONSERVĂRII MATERIALULUI SEMINAL DE BERBEC.** Rotari Doina, Darie Grigore, Chiselița Oleg, Djenjera Irina, Bradu Nina, Chiselița Natalia, Beșliu Alina, *Institutul Stiintifico Practic de Biotehnologii în Zootehnie și Medicină Veterinară, Republica Moldova***,** *Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Republica Moldova.* **INFLUENȚA BIOPREPARATELOR CIANOBACTERIENE ASUPRA SPERMATOGENEZEI LA VIERI.** Cibotaru Elena, Chiselița Oleg, Matvienco Natalia, Savca Diana, Djenjera Irina, *Universitatea Agrară de Stat din Moldova· Institul Stiințifico-Practic de Biotehnologii în Zootehnie și Medicină Veterinară, Republica Moldova, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Republica Moldova.* **ACTIVITATEA ANTIFUNGICĂ A MICROMICETELOR DUPĂ PĂSTRARE ÎN STARE LIOFILIZATĂ IN DEPENDENȚĂ DE MEDIUL DE REHIDRATARE.** Timus Ion, *Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Republica Moldova*.

13.00 –13.30	Pause
13.30 –15.30	Presentations: **SCREENING OF LOW DENSITY POLYETHYLENE DEGRADING FUNGI.** Rastimesina Inna, Postolachi Olga, Josan Valentina, Cotoman Alina, Mamaliga Vera**,** *Institute of Microbiology and Biotechnology, Republic of Moldova.* **SCREENING OF CULTIVATION MEDIA FOR LDPE BIODEGRADATION BY *PENICILLIUM VERRUCOSUM* CNM-FP-02**. Postolachi Olga, Rastimesina Inna, Josan Valentina, Mamaliga Vera, Cotoman Alina**,** *Institute of Microbiology and Biotechnology, Republic of Moldova* **PRESENCE OF *ACTINOBACTERIA* IN THE AQUATIC ECOSYSTEMS OF THE "LA IZVOR" LAKE SYSTEM IN THE CHISINAU CITY.** Birsa Maxim, Cebotari Victoria, Burtseva Svetlana, *Institute of Microbiology and Biotechnology, Republic of Moldova*. **GRAPE POMACE AS A FILLER IN WINE VINEGAR FERMENTATION.** Boiștean Alina, *Technical University of Moldova, Republic of Moldova.* **EVALUATION OF THE COLOR AS A CHARACTERIZATION PARAMETER OF HONEY FROM TUNISIA, ROMANIA AND MOLDOVA.** Boistean Alina, Chirsanova Aurica, Capcanari Tatiana, Siminiuc Rodica, *Technical University of Moldova, Republic of Moldova.* **THE ASSESSMENT OF COPPER, *IRON, ZINC,* AND NICKEL TOLERANCE COMBINED WITH *NOSTOC LINCKIA* BIOMASS PRODUCTION.** *Codreanu Liviu, Institute of Microbiology and Biotechnology, Republic of Moldova*. **THE ASSESSMENT OF PHYTOTOXICITY OF SOIL POLLUTED WITH ORGANOCHLORINE PESTICIDES.** Josan Valentina, Rastimesina Inna, Postolachi Olga, *Institute of Microbiology and Biotechnology, Republic of Moldova.* **SCREENING OF GLYCOL ETHER DESTRUCTING MICROORGANISMS AS AN INITIAL STEP IN THE DEVELOPMENT OF A MICROBIAL PREPARATION FOR SOLVENT WASTEWATER TREATMENT.** Narkevich Darya, Hlushen Alena, Kuchura Anastasiya, *Institute of Microbiology, National Academy of Sciences, Belarus*. **LOCAL ISOLATES OF ENTOMOPATHOGENIC BACULOVIRUS AS A SPECIFIC, SAFE, AND EFFECTIVE TOOL FOR *HYPHANTRIA CUNEA* DRURY.** Stingaci Aurelia, Volosciuc Leonid, *Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection, Republic of Moldova.* **THE BEER YEAST BIOMASS AS A VALUABLE SOURCE OF LIPIDS.** Tofan Elena, Chiselița Natalia, Chiselița Oleg, Beșliu Alina, Efremova Nadejda, Lozan Ana, Daniliș Marina, *Institute of Microbiology and Biotechnology, Republic of Moldova.*
May 21, FRIDAY meet.google.com/xng-frmt-gun	
10.00–12.30	Presentations: **ESTIMATION OF *MALONDIALDEHYDE CONTENT* IN *ARTHROSPIRA PLATENSIS* CNMN-CB-11 *CULTIVATED IN THE PRESENCE* OF INORGANIC *SELENIUM* (*IV*) *COMPOUNDS*.** Djur S., Tasca I., Cepoi L., Rudic V.**,** *Institute of Microbiology and Biotechnology, Republic of Moldova*. **BIOCARBURANȚII – OPORTUNITĂȚI DE VALORIFICARE A DEȘEURILOR DIN INDUSTRIA ALIMENTARĂ.** Cojocaru Carolina, Covaci Ecaterina, *Universitatea Tehnică a Moldovei, Republica Moldova.* **ENZYMATIC SYNTHESIS OF 6-THIO-2′-DEOXYGUANOSINE AND ITS PHOSPHATIDYL DERIVATIVE.** Vinter Marharyta, Bulatovski Alexey, Birichevskaya Larisa, Zinchenko Anatoli, *Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus.* **BIOGAS AS A SOURCE OF RENEWABLE ENERGY OBTAINED FROM THE RECOVERY OF FOOD INDUSTRY WASTE.** Guțu Crina, Covaci Ecaterina, *Technical University of Moldova, Republic of Moldova*. **ASPECTE APLICATIVE DE VALORIFICARE A PRODUSELOR SECUNDARE VINICOLE.** Ipiroti Nicoleta, Covaci Ecaterina, *Universitatea Tehnică a Moldovei, Republica Moldova.* **MODERN APPROACHES IN AGRICULTURE FOR ENVIRONMENTAL PROTECTION AND THE ORIGIN OF PRODUCT QUALITY: THE USE OF BIOPESTICIDES.** Daraban Mihaita Gabriel, Zaharia Carmen, Badeanu Marinela and Suteu Daniela , *"Gheorghe Asachi" Technical University of Iasi-Romania and "Ion Ionescu de la Brad" University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Iasi, Romania.* **PROCEDEU INOVATIV DE MATURARE A PREPARATELOR DIN CARNE.** Golubi Roman, Bogdan Nina, *Institutul Ştiinţifico-Practic de Horticultură şi Tehnologii Alimentare, Republica Moldova.* **SĂNĂTATEA SOLULUI – O NOUĂ PARADIGMĂ PENTRU DEZVOLTAREA AGRICULTURII DURABILE**. Frunze Nina, *Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, Republica Moldova.*

	ROLUL ASOLAMENTELOR FURAJERO-CEREALIERE ÎN PROTEJAREA ŞI REMEDIEREA SOLULUI. Bolocan Nistor, Darie Valerian, Tonu Nicolae, Frunze Nina, *Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, Republica Moldova.* **INFLUENCE OF NEW BIOACTIVE COMPOUNDS ON THE INTENSITY OF THE PROTEIN METABOLISM IN ANIMALS IN THE BLOOD SERUM UNDER PHYSIOLOGICAL CONDITIONS.** Pantea Valeriana, Sardari Veronica, Andronache Lilia, Gamaniuc Marina, Gudumac Valentin, *State University of Medicine and Pharmacy Nicolae Testemitanu, Republic of Moldova*. **BIOACTIVE COORDINATIVE COMPOUNDS ACTION ON THE CARBOHYDRATE METABOLISM INDICES IN ANIMALS UNDER PHYSIOLOGICAL CONDITIONS.** Sardari Veronica, Pantea Valeriana, Cristina Popuşoi, Gulea Aurelian, Gudumac Valentin, *State University of Medicine and Pharmacy Nicolae Testemitanu, Republic of Moldova*. **REMEDIUL BioR – MEDICAMENT EFICIENT ÎN AMELIORAREA POTENŢIALULUI REPRODUCTIV LA IEPUROAICE.** Maţencu D., Macari V., Rotari A., Didoruc S., *Universitatea Agrară de Stat din Moldova.*
12.30 –13.00	Pause
13.00–16.00	Presentations: **CHALLENGES IN IDENTIFYING MICROBIAL BIOMASS SUITABLE FOR BIOSORPTION AND BIOACCUMULATION PROCESSES.** Hlihor Raluca Maria, Roşca Mihaela, Simion Isabela-Maria, Filote Cătălina, Cozma Petronela, Apostol Maria, Favier Lidia, Gavrilescu Maria,*"Ion Ionescu de la Brad" University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Iasi, "Gheorghe Asachi" Technical University of Iasi, Univ Rennes, Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes, France and Academy of Romanian Scientists, Romania.* **EFECTELE SINERGISMULUI PLANTE-MICROORGANISME PRIVIND FITOREMEDIEREA SOLURILOR POLUATE CU METALE GRELE.** Minuţ Mariana, Roşca Mihaela, Cozma Petronela, Diaconu Mariana, Gavrilescu Maria, *Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iaşi, Universitatea de Ştiinţe Agricole şi Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad" din Iaşi, Academia Oamenilor de Ştiinţă din Romania, Bucuresti, România.* **CHALLENGES AND OPPORTUNITIES OF USING MEDICINAL PLANTS IN PHYTOREMEDIATION.** Simion Isabela-Maria, Hlihor Raluca Maria, Apostol Maria, Hagiu Zaleschi Laura, Asiminicesei Dana, Gavrilescu Maria, *"Ion Ionescu de la Brad" University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Iasi, "Gheorghe Asachi" Technical University of Iasi, Academy of Romanian Scientists, Bucharest, Romania*. **INFLUENŢA REMEDIULUI ZooBioR ASUPRA STĂRII FUNCŢIONALE A FICATULUI, PRODUCŢIEI ŞI CALITĂŢII OUĂLOR DE GĂINĂ ÎN PRIMA FAZĂ TEHNOLOGICĂ DE OUAT.** Macari V., Gudumac V., Rotari L., Pistol Gh[1], Putin V., Rotaru A., Pantea V., *Univesitatea Agrară de Stat din Moldova, Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie „Nicolae Testemiţanu", Republica Moldova.* **ABORDĂRI BIOTEHNOLOGICE PENTRU PROTECŢIA MEDIULUI: UTILIZAREA PLANTELOR AUTOHTONE PENTRU BIOREMEDIEREA SOLURILOR POLUATE CU METALE GRELE.** Vasilachi Ionela Cătălina, Asiminicesei Dana Mihaela, Minuţ Mariana, Cozma Petronela, Comăniţă Elena-Diana, Hlihor Raluca Maria, Gavrilescu Maria, *Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iaşi, Universitatea de Ştiinţe Agricole şi Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad"din Iaşi, Academia Oamenilor de Ştiinţă din România, Bucureşti, România*. **ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF A BACTERIUM FROM PETROLEUM SLUDGE.** Stancu Mihaela Marilena, *Institute of Biology Bucharest of Romanian Academy, Romania.* ***RHODOCOCCUS WRATISLAVIENSIS* G13 AS A PERSPECTIVE AGENT FOR A RANGE OF MICROBIAL PREPARATIONS FOR THE BIOREMEDIATION OF NATURAL AND INDUSTRIAL ENVIRONMENTS.** Shavela Yuliya, Hlushen Alena, Chyrykava Marharyta, *Institute of Microbiology, National Academy of Sciences, Belarus*. **INFLUENŢA UNOR COMPUŞI COORDINATIVI AI Cu(II) ŞI INTENSITĂŢII LUMINII ASUPRA CONŢINUTULUI DE EXOPOLIZAHARIDE SULFATATE PRODUSE DE CIANOBACTERIA *SPIRULINA PLATENSIS*.** Turcan Olga, *Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, Republica Moldova.* **ELABORAREA PREPARATULUI BACULOVIRAL VIRIN-HS-P PENTRU COMBATEREA *HELICOVERPA ARMIGERA* LA TOMATE.** Zavtoni Pantelimon, Volosciuc Leonid, *Institutul de Genetică, Fiziologie şi Protecţie a Plantelor, Republica Moldova.* **DIVERSITATEA MICROMICETELOR DETERMINATE ÎN LACUL „LA IZVOR".** Moldovan Cristina, *Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, Republica Moldova.* **LIOFILIZAREA - METODĂ SIGURĂ DE CONSERVARE A MICROORGANISMELOR DE INTERES BIOTEHNOLOGIC.** Sîrbu Tamara, Moldovan Cristina, Ţurcan Olga, *Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, Republica Moldova*.
16.00 – 16.30	*Closing ceremony*

Platforma:

BIOTEHNOLOGII MODERNE - SOLUȚII PENTRU PROTEJAREA ȘI REMEDIEREA MEDIULUI

Platform:

MODERN BIOTECHNOLOGIES FOR PROTECTION AND REMEDIATION OF THE ENVIRONMENT

MICROBIOLOGICAL TOOLS FOR ASSESSMENT AND PREDICTION OF THE IMPACT OF SOIL MANAGEMENT ON SOIL ORGANIC MATTER IN MOLDOVAN CHERNOZEMS

https://doi.org/10.52757/imb21.001

Corcimaru Serghei, Mereniuc Lilia, Sîtnic Feodora
The Institute of Microbiology and Biotechnology, the Republic of Moldova
sergheicorcimaru@hotmail.com

Abstract

Significant correlations between soil organic matter content (SOM) and soil microbial parameters (soil microbial biomass, basal respiration and metabolic quotient) were observed in the poorly humified Typical chernozem of the Chisinau long-term field experiments (three fodder-cereal crop rotations with and without alfalfa, mineral fertilizers and farmyard manure with plant residues). Similar correlations were found in our previous study of the moderately humified Typical chernozem from the Balti long-term field experiments (6 traditional and 2 ecological crop rotations with and without alfalfa, mineral fertilizers and/or farmyard manure; continuous black fallow and 5 continuous crops with and without mineral fertilizers with farmyard manure). The observed correlations open possibilities of using microbial parameters as a tool for SOM related assessments and predictions. The long-term impacts of newly introduced management practices on SOM (and, therefore, on soil quality) can be predicted from the direction and extent of the short-term changes those practices cause in the soil microbial biomass and its activity.

***Key words**:* soil microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient, soil organic matter, long-term field experiments, soil quality monitoring and prognosis.

Introduction

Efficient tools for assessment and prediction of impacts on soil organic matter content (SOM) are necessary for the development and implementation of the sustainable management practices aimed at maintaining and/or increasing SOM. The usefulness of direct SOM measurements in these matters is constrained by the impossibility of establishing experimentally verifiable changes within relatively short time. Although long-term experiments seem to offer a solution to the problem [1], the practical value of this solution is limited because of the considerable amount of time and effort needed. Under such conditions the necessity of more efficient tools is obvious. Soil microbial biomass (SMB) is among the best candidates here, and there are at least 5 reasons why so: (1) SMB constitutes one of the most important attributes of soil quality [2-3]; (2) Depending on soil conditions, the microorganisms either produce or decompose humus – the major and most important part of SOM [4]; (3) for any given soil and climate conditions the microbial activity is largely conditioned by the same factors that control the accumulation of SOM (e.g., the quantity, quality and timing of organic matter inputs to soil), which in their turn depend on soil management [1, 4]; (4) SMB has a much faster turnover rate comparing to the one of SOM (0,5-5 years *vs*> 20 years) [5]; and (5) there are available microbiological methods for timely detection of changes in the rates of soil organic matter transformation induced by soil management [5].

In our previous work we observed statistically significant correlations between SOM and microbial parameters (SMB and/or basal respiration) in the Balti long-term field experiments (6 traditional and 2 ecological crop rotations with and without alfalfa, mineral fertilizers and/or farmyard manure; continuous black fallow and 5 continuous crops with and without mineral fertilizers with farmyard manure) [6]. These correlations demonstrated that with time a specific quantitative relationship between SOM and SMB parameters is reached in the moderately humified Typical chernozem of Moldova [7], a relationship that remains the same across a wide range of experimental variants with different levels of SOM content and SMB activity, conditioned by differences in soil management. These correlations as well as the difference in the turnover rates between SMB and SOM permitted to suggest a practical possibility of using SMB as a tool for SOM related assessments and predictions. Once a new soil management practice is introduced and

SMB is allowed sufficient time (comparable to the SMB turnover rates) to approach the new equilibrium determined by peculiarities of this practice, the quantitative prediction of the future SOM level becomes calculable from the new microbial parameters and the established correlational relationship (assuming that given enough time SOM will tend to fit the same correlational relationship that was observable in the long-term field experiments).

The purpose of this work was to expand this research by using the same approach for a different subtype of chernozem soils in Moldova – poorly humified Typical chernozem [7]. The samples of this chernozem soil were collected from the Chisinau long-term field experiments that included three fodder-cereal crop rotations with and without alfalfa and different mineral and organic (farmyard manure and plant residues) fertilizers, and were studied in order to (a) assess the impact of the different management practices on SOM; (b) assess the impact of these practices on SMB and its activity; and (c) establish the relationship between SOM and the microbiological parameters that can be used for SOM related assessments and predictions.

Materials and Methods

The long-term field experiments were established in 1995 (by the Institute of Microbiology and Biotechnology) on the outskirts of the city of Chisinau, the Republic of Moldova. The soil was poorly humified Typical chernozem [7]. The study included experimental plots under three 7-field crop rotations: (1) alfalfa [3 fields]/winter cereals for grain/maize for grain/maize for fodder/winter cereals for grain; (2) fodder beets/legumes for grain/maize for fodder/winter cereals for grain/maize for grain/soy for beans/winter cereals for grain; and (3) maize for grain/sorghum for grain with soy for fodder/maize for fodder/winter cereals for grain/green fodder sainfoin/ winter cereals for grain [2 fields]. Within each crop rotation there were subvariants with and without mineral fertilizers (NPK – respectively 60-60-60 kg/ha in 2020) or farmyard manure and plant residues (12-24-24 t/ha/rotation for crop rotations 1, 2 and 3 respectively). For a more detailed description of the experiments, see [8].

Soil samples were collected in the spring of 2020 from a depth of 0-20 cm; passed through a 2 mm sieve and plant material, stones and visible organisms removed manually; adjusted to 40 per cent water holding capacity and pre-incubated for 10 days at 25ºC in the dark, in aerated plastic bags (to prevent accumulation of CO_2) with periodic adjustment of moisture (to prevent drying). SOM was determined by dichromate oxidation followed by back titration of the excess dichromate [9]. SMB was determined by substrate-induced respiration [10]. Basal respiration was determined by measuring CO_2 emission from soil [10]. Metabolic quotient was calculated as basal respiration expressed per mg of SMB carbon, and microbial quotient was expressed as the percentage of SMB carbon to the total soil organic carbon.

Results and Discussion

Crop rotations 1 and 2 in the cases of application of farmyard manure and plant residues were identified as the ones with the highest potential to retain and/or increase soil organic matter content (SOM) in the poorly humified Typical Chernozem of Moldova (fig. 1).

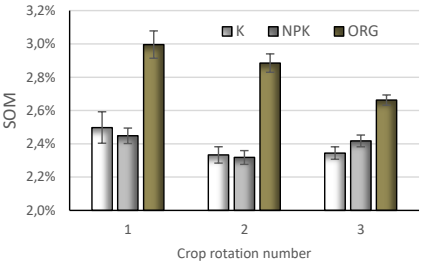


Fig. 1. Soil organic matter content (SOM) for crop rotations 1-3. “K”, “NPK” and “ORG” for each crop rotation are, respectively, the subvariants without fertilization, with mineral fertilizers, and with farmyard manure. Values are means ± confidence interval (P=0.05).

Within any fertilization background the highest SOM content was always observed in crop rotation 1, the rotation with alfalfa (although the difference was not always statistically significant),

while withing any crop rotation it was always the highest in the subvariants with application of farmyard manure. In crop rotations 1 and 2 the application of mineral fertilizers did not cause statistically significant SOM changes compared to the subvariants without fertilization, while in crop rotation 3 there was a small increase (+3%).

The impact of the management practices on the microbial parameters in the soil samples was like the one on SOM content (tab. 1). Within any fertilization background SMB, BR and microbial quotient (the parameters that are usually used for soil quality assessment) were the highest (or statistically not different from the highest) in crop rotation 1, while within any crop rotation in most of the cases they were the highest in the subvariants with application of farmyard manure (although the difference was not always statistically significant).

Table 1. The microbial parameters and their confidence interval (P=0.95) in the soil samples from crop rotations 1-3

Crop rotation*		Soil respiration**, µg C_{CO2}/g/h			SIR***, µg C_{CO2}/g/h	Microbial quotient, %	Metabolic quotient, µg C_{CO2}/mg_{SMB}/h
n.	Fertilization background	25° C	37° C	47° C			
1	-	0.016±0.002	0.091±0.021	0.454±0.118	1.06±0.14	0.79±0.13	0.133±0.007
	NPK	0.018±0.001	0.094±0.014	0.524±0.086	1.14±0.11	0.90±0.07	0.140±0.008
	FYM+PR	0.034±0.002	0.172±0.024	0.578±0.139	1.24±0.06	0.81±0.07	0.242±0.007
2	-	0.014±0.001	0.072±0.008	0.275±0.044	0.87±0.09	0.72±0.12	0.134±0.005
	NPK	0.016±0.001	0.063±0.003	0.526±0.087	1.00±0.05	0.84±0.03	0.144±0.006
	FYM+PR	0.027±0.002	0.167±0.007	0.519±0.168	1.28±0.07	0.87±0.07	0.187±0.009
3	-	0.014±0.001	0.070±0.009	0.309±0.090	0.94±0.02	0.78±0.02	0.135±0.011
	NPK	0.019±0.004	0.067±0.004	0.409±0.125	1.05±0.04	0.85±0.04	0.158±0.024
	FYM+PR	0.026±0.004	0.111±0.020	0.495±0.170	1.19±0.16	0.87±0.12	0.193±0.012

* NPK – the subvariants with mineral fertilizers, FYM+PR – farmyard manure with plant residues;
** 25-47° C – the temperature of soil incubation before respiration measurement;
*** SIR – substrate induced respiration.

There were observed statistically significant correlations between SOM content and most of the studied microbial parameters (fig. 2).

It was observed that a short-term soil incubation at temperatures 37-47°C increased the BR rate (as a reaction to the environmental stress), and in the case of 37°C improved even more the significance of the correlation between BR and SOM (fig. 3).

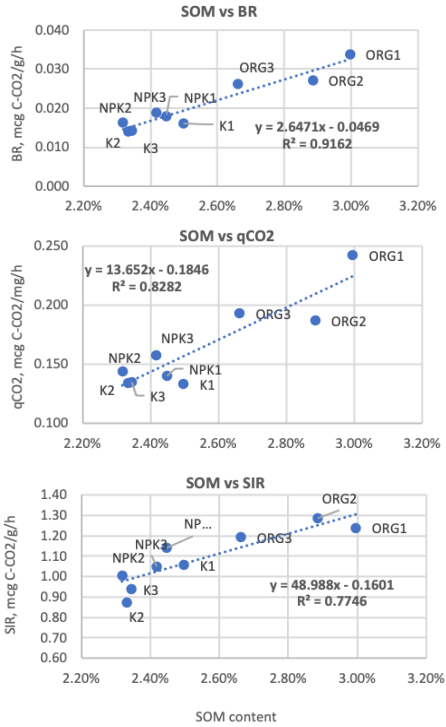


Fig. 2. The correlations between soil organic matter content (SOM) and different microbial parameters observed in the soil samples from crop rotations 1-3. "K", "NPK" and "ORG" for each crop rotation are, respectively, the subvariants without fertilization, with mineral fertilizers, and with farmyard manure. "BR", "qCO_2" and "SIR" are, respectively, basal respiration, metabolic quotient and substrate induced respiration.

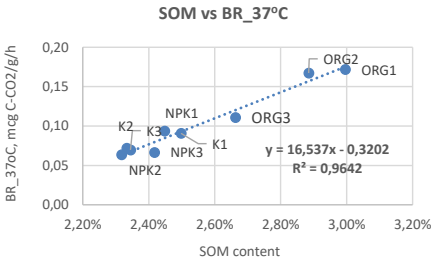


Fig. 3. The correlation between soil organic matter (SOM) content and basal respiration (BR) rate after 96 hours of soil incubation at 37ºC for the soil samples from crop rotations 1-3. "K", "NPK" and "ORG" for each crop rotation are, respectively, the subvariants without fertilization, with mineral fertilizers, and with farmyard manure.

This statistically more significant correlation between BR and SOM at 37ºC confirmed the observed earlier possibility of increasing the probability of observing correlations between SOM and soil microbial parameters under specific laboratory conditions. As it was found in our previous study with the moderately humified Typical Chernozem in Balti [6], the more unfavorable the weather conditions before and during sampling were the lower was the probability of observing the correlation between SMB and SOM, and the higher was the probability of the BR-SOM correlation. At the same time, the relatively more favorable conditions before and during sampling increased the probability of SMB-SOM correlation, but not necessarily excluded the BR-SOM one (the latter was true for the correlations observed in this study too). Based on these observations a possibility of increasing the significance of the SMB-SOM correlation was demonstrated via alleviating the impacts of the temporary negative environmental factors on SMB under laboratory conditions. At the same time the BR-SOM correlation was increased by artificial creation of environmental stress (just like in the present case with increased temperature). This possibility of increasing the probability of observing significant correlations between SOM and soil microbial parameters may be especially helpful when soil sampling happens after and/or during unfavorable weather conditions under which the microbial parameters may be more influenced by temporary environmental stresses rather than by soil quality.

As it was stated in the introduction, the big difference in the turnover rates between SMB and SOM and the correlations between SOM and microbial parameters observable in the Balti long-term field experiments opened practical possibilities of using soil microorganism as a tool for SOM related assessments and predictions. The results of this study confirm this possibility and extend it to the poorly humified Typical Chernozem. This possibility may be beneficial in such important fields as carbon sequestration, prevention of soil degradation, protection and enhancement of soil quality, assessment and development of sustainable soil management practices and others. Its implementation on the global scale may contribute to the solution of the climate change problem, while locally it will provide farmers with opportunities of investing into soil quality by evaluating and selecting the most efficient management practices. The obtained results can be used for further research, involving other high-organic carbon black soils of Moldova and not only.

Conclusions

1. Crop rotations 1 and 2 possessed the highest potential to retain and/or increase SOM in the poorly humified Typical Chernozem of Moldova.
2. The studied management practices had similar impacts on SOM content and soil microbial parameters: within any fertilization background the highest (or statistically not different from the highest) SOM content, SMB, BR and microbial quotient were observed in crop rotation 1, while withing any crop rotation they were the highest (or statistically not different from the highest) in the subvariants with application of farmyard manure.
3. There were observed significant correlations between SOM content and the studied microbial parameters, and these correlations can be used as a tool for SOM related assessments and predictions. They demonstrate that the long-term impacts of different management practices on SOM content (and, therefore, on soil quality) can be predicted from the direction and

extent of the relatively short-term changes those practices cause in the soil microbial biomass and its activity.

Bibliography:

1. Christensen B.T., Johnston A.E. Soil organic matter and soil quality – lessons learned from long-term experiments at Askov and Rothamsted. In E.G. Gregorich& M.R. Carter (editors). Soil quality for crop production and ecosystem health. Developments in Soil Science. 1997, 25, 399-430.
2. Gregorich, E.G., et al. Biological attributes of soul quality. In: Gregorich, E.G., Carter, M.R. (Eds.), Soil Quality for Crop Production and Ecosystem Health. Developments in Soil Science. 1997, 25, 81-113.
3. Schloter M., et al. Microbial indicators for soil quality. Biology & Fertility of Soils. 2018. 54:1–10.
4. Stockmann U., et al. The knowns, known unknowns and unknowns of sequestration of soil organic carbon. Agriculture, Ecosystems & Environment. 2013. 164. 80-99.
5. Dalal R.C. Soil microbial biomass – what do the numbers really mean? Australian Journal of Experimental Agriculture. 1998. 38. 649-66.
6. Corcimaru S. Potențialul microbiologic în estimarea impactului tehnologiilor arabile asupra calității solului. Akademos. 2015, 2, 51-56.
7. Ursu A. Clasificarea solurilor Republicii Moldova. Ediția II. Chisinau: CNMSS, 2001. 38 p.
8. Lupașcu M., et. al. Asolamentele furajero-cerealiere – calea spre sistemul ecologo-ameliorativ (organic) al agriculturii. Agricultura Moldovei. 2015. Nr. 3-6, 11-12, 23-27.
9. Nelson D.W., Sommers L.E. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In A.L. Page and others (editors). Methods of Soil Analysis, Part 2, Agronomy 9, 2nd edition. ASA/SSSA Madison WI. 1982, 961-1010.
10. Корчмару С. Оценка метода субстрат-индуцированного дыхания (для определения почвенной микробной биомассы) на примере почв Молдовы. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții. 2009. 1 (307). 134-142.

Acknowledgements

The presented results were obtained within a research project framed within the activities of the Eurasian Soil Partnership Implementation Plan. The project has been financially supported by the Russian Federation in the framework of the global project "GCP /GLO/853/RUS: Support for the promotion of sustainable soil management within the framework of the Global Soil Partnership: Phase II" and has been awarded through a competitive process by the Global Soil Partnership (GSP) of the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). We acknowledge the GSP Secretariat, the Intergovernmental Technical Panel on Soils (ITPS) and the Eurasian Centre for Food Safety (ECFS), members of the Scientific Committee, for the technical support provided in the preparation and implementation phases of this project.

INFLUENȚA NANOMAGNETITEI ASUPRA PROCESELOR DE CREȘTERE ȘI DEZVOLTARE A SOII ȘI FORMĂRII SISTEMULUI RIZOBIO-RADICULAR ÎN CONDIȚIILE SOLULUI POLUAT CU POLIETILENA

https://doi.org/10.52757/imb21.002

Corcimaru Serghei[1], Todiraș Vasile[1], Prisacari Svetlana[1], Guțul Tatiana[2]
[1]*Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Republica Moldova*
[2]*Institutul de Inginerie Electronică și Nanotehnologii „D.Ghițu”, Republica Moldova*
sergheicorcimaru@hotmail.com

Rezumat

Tratarea solului cu nanomagnetită (NM, 25 mg/kg) a stimulat formarea sistemului rizobio-radicular a soii și a neutralizat influența toxică a polietilenei de densitate scăzută (LDPE) asupra dezvoltării plantei. Tratarea solului cu NM și bacterizarea semințelor soii cu *Rhizobium japonicum RD2* în condițiile solului tratat cu LDPE (5 g/kg) au sporit masa uscată a plantei cu 41.9%, iar numărul și masa nodozităților – respectiv de 4.8 și 4.2 ori. Ca rezultat, varianta cu aceste tratări a depășit după toți parametrii martorul absolut și în majoritatea cazurilor a devenit statistic nedeosebită de martorul cu creșterea semințelor bacterizate în sol fără tratarea cu LDPE. Rezultatele obținute au evidențiat posibilitatea utilizării NM, soii și tulpinii *Rhizobium japonicum RD2* în cadrul procedeelor de nano-fitoremediere a terenurilor poluate cu LDPE.

Cuvinte cheie: nanomagnetită, nanofitoremediere, polietilenă, LDPE, poluarea solului, soia, bacterii simbiotrofe, nodozități.

Introducere

În majoritatea țărilor cât și în Republica Moldova persistă problema poluării mediului ambiant cu produse plastice, inclusiv cu polietilenă de densitate scăzută (LDPE). Materialele plastice sub acțiunea factorilor biotici și abiotici se descompun în particule mai mici, care nimerind în sol, apă și aer exercită un impact negativ asupra sănătății solului, dezvoltării plantelor și productivității lor. Cu cât dimensiunea particulelor de plastic este mai mică cu atât mai mare este toxicitatea [7, 8, 12, 14, 15, 18, 19].

Microplasticul din sol și apă nimerește în plante prin fisurile pe rădăcinile laterale și mai departe este transportat în plantă [11]. Acumularea plasticului de către plante are consecințe negative asupra recoltei și calității nutritive a producției obținute [11, 19], și ca rezultat, pune sub pericol securitatea alimentară și dezvoltarea durabilă a agriculturii [8, 11, 15, 18].

Consecințele negative ale poluării solului cu plastic impun necesitatea elaborării măsurilor de remediere. Din lipsa metodelor chimice și fizice de distrugere eficientă a poluantelor din sol, în ultimul timp atenția este îndreptată spre elaborarea procedeelor de degradare biologică [2, 4, 6, 9, 13, 17], inclusiv cu aplicarea fitoremedierii și nano-bioremedierii [1, 3, 10, 20].

Fitoremedierea este utilizarea plantelor, microorganismelor de rizosferă asociate cu aceste plante, adausurilor pentru sol și procedeelor agronomice pentru înlăturarea, detoxicarea și distrugerea poluanților nocivi din mediul ambiant. Nano-fitoremedierea, la rândul său, presupune utilizarea nanomaterialelor pentru stimularea și eficientizarea fitoremedierii. Fitoremedierea și nano-fitoremedierea sunt tot mai activ studiate ca mijloace de restabilire a solurilor poluate cu diferite substanțe organice și neorganice (poluanți organici persistenți, metale grele, etc.) [16]. Fitoremedierea deja este cu succes utilizată în practica purificării terenurilor agricole și apelor subterane, orășenești, agricole și industriale [1, 20]. Totodată, la momentul, dat practic nimic nu se știe despre posibilitatea utilizării nano-fitoremedierii pentru soluri poluate cu materiale plastice.

Reieșind din cele expuse scopul lucrării a fost de a evalua posibilitatea utilizării nano-fitoremedierii pentru soluri poluate cu LDPE. În calitate de fitoremediator a fost testată planta de soia, bacterizată și nebacterizată cu tulpina *Rhizobium japonicum* RD2, iar în calitate de stimulatori ai fitoremedierii – nanoparticule de magnetită.

Material și metode

Experimentele vegetaționale au fost efectuate în condiții de laborator, în vase cu sol cernoziom tipic slab humifer cu conținutul substanțelor organice de 3,4% (300 g/vas, 3 repetări), în climocameră cu respectarea factorilor de iluminare (de zi), umiditate, ventilare și temperatură (24-26º C). În fiecare vas au fost introduse câte 5 semințe de soia și după germinare numărul plantelor a fost redus până la 3. Au fost prevăzute următoarele variante experimentale:

(1) „Martor" – soia nebacterizată crescută în condițiile solului netratat cu LDPE;
(2) „RZ" – soia bacterizată cu tulpina *Rhizobium japonicum* RD2 crescută în condițiile solului netratat cu LDPE;
(3) „NM" – soia nebacterizată crescută în condițiile solului fără LDPE, tratat cu nanomagnetită (25 mg/kg/sol);
(4) „LDPE" – soia nebacterizată crescută în condițiile solului tratat cu LDPE (5 g/kg);
(5) „RZ+LDPE" – soia bacterizată cu tulpina *Rhizobium japonicum* RD2 crescută în condițiile solului tratat cu LDPE;
(6) „NM+LDPE+RZ" – soia bacterizată cu tulpina *Rhizobium japonicum* RD2 crescută în condițiile solului cu LDPE, tratat cu nanomagnetită.

Bacterizărea semințelor: tulpina *Rhizobium japonicum* RD2 a fost crescută pe mediul nutritiv agarizat solid cu pulbere din plantule de mazăre timp de 14 zile în termostat la temperatura de 28º C, apoi 3 zile – în condiții de agitare în mediul lichid cu fiertură din mazăre la aceeași temperatură [21]. Bacterizarea s-a efectuat reieșind din calculul: 1 mln de celule la 1 sămânță [21].

Nanoparticulele de magnetită (17–25 nm) au fost obținute folosind sulfatul de fier (II) şi clorura de fier (III) prin metoda coprecipitării în prezența polimerului poli-N-vinilpirolidonă, utilizat ca stabilizator.

Polietilena de densitate scăzută (LDPE) a fost introdusă în sol sub formă de particule tocate mărunt.

Durata experimentelor a fost până la faza de butonizare sau butonizare-înflorire a soii. Au fost măsurați următorii parametri: germinarea semințelor, faza de dezvoltare a plantelor la sfârșitul experimentului, înălțimea părții aeriene a plantelor, lungimea rădăcinii, masa uscată a plantelor, numărul și masa uscată a nodozităților de rădăcină.

Rezultate si discuții

Introducerea în sol a LDPE spre deosebire de alți factori studiați (bacterizarea semințelor cu *Rhizobium japonicum* RD2 și tratarea solului cu NM), a avut o influență inhibitoare asupra soii (tab. 1): valoarea minimă a tuturor parametrilor a fost practic întotdeauna (cu doar o singură excepție) anume în varianta cu polietilenă („LDPE"). LDPE a redus considerabil eficiența tratării semințelor cu *Rhizobium japonicum* RD2: în varianta „RZ+LDPE" lungimea rădăcinii, numărul și masa nodozităților de rădăcină au scăzut respectiv cu 30.5, 62.4 și 76.1% față de varianta cu semințe bacterizate și solul fără LDPE („RZ"). Astfel a fost confirmată influența toxică a LDPE asupra plantelor.

Bacterizarea semințelor cu *Rhizobium japonicum* RD2 (varianta „RZ") s-a rezultat cu cele mai pozitive schimbări față de „Martor": toate caracteristicele ale plantei au crescut semnificativ cu 26.9-46.5%, iar numărul și masa nodozităților de rădăcină – de 4.6 și 5.5 ori respectiv. Aceste efecte pot fi ușor explicate prin avantajele bine-cunoscute ale endosimbiozei rizobiale care a fost stimulată prin bacterizare [21]. Cu toate acestea, cum deja a fost menționat, bacterizarea semințelor nu a stimulat creșterea soii în condițiile solului poluat cu LDPE: varianta „RZ+LDPE" a fost statistic nedeosebită de „LDPE" după absolut toți parametrii măsurați (tab. 1).

Tratarea solului cu NM (varianta „NM", tab. 1) a avut consecințe pozitive și veridice față de „Martor" pentru numărul și masa nodozităților, care au crescut respectiv de 1.7 și 3.3 ori. După restul parametrilor schimbările au fost nesemnificative (față de „Martor"). Conform lucrărilor noastre precedente tratarea cu NM poate îmbunătăți condițiile solului prin stimularea activității microbiene și distrugerea substanțelor nocive [5]. Presupunem, că anume mecanismele de acest gen au stat la baza stimulării endosimbiozei în varianta „NM". Important a fost și acel fapt că nu au fost

depistate efecte toxice din partea NM asupra plantelor și solului, ce a demonstrat lipsa riscurilor ecologice de la tratarea solului studiat cu NM (in concentrația aplicată).

Tabelul 1. Indicatori ai dezvoltării soii și formării sistemului rizobio-radicular în diferite variante experimentale

Varianta*	Planta					Nodozitățile	
	Germinarea semințelor, %	Faza de dezvoltare a soii**	Înălțimea părții aeriene, cm	Lungimea rădăcinii, cm	Masa uscată, g	Numărul/ rădăcina	Masa uscată, g/rădăcină
Martor	66,7±6,53	A	67,89±8,32	23,68±3,34	4,00±1,00	14,33±2,51	0,015 ± 0,006
RZ	86,6±6,53	B	86,18±4,76	32,43±4,90	5,86±0,19	65,67±9,87	0,080±0,012
NM	76,7±6,53	B	74,97±7,12	23,44±2,92	5,10±0,85	25,00±2,00	0,049±0,006
LDPE	63,3±6,53	A	70,19±7,90	20,27±3,95	3,56±0,67	11,67±4,93	0,014±0,002
RZ+LDPE	70,0±11,32	A	75,30±12,81	22,56±4,08	4,06±1,87	24,67±13,57	0,019±0,013
NM+LDPE+RZ	83,0±23,56	B	80,02±4,64	24,53±2,74	5,05±0,19	55,67±28,02	0,060±0,023

**„Martor" – sol (nepoluat) însămânțat cu soia nebacterizată; „RZ" – sol însămânțat cu soia bacterizată cu tulpina Rhizobium japonicum RD2; „NM" – sol tratat cu nanomagnetită (25 mg/kg) și însămânțat cu soia nebacterizată; „LDPE"- sol tratat cu LDPE (5 g/kg) și însămânțat cu soia nebacterizată; „RZ+LDPE" – sol tratat cu LDPE (5 g/kg) și însămânțat cu soia bacterizată; „NM+LDPE+RZ"- sol tratat cu LDPE (5 g/kg) și ulterior cu nanomagnetită (25 mg/kg), și însămânțat cu soia bacterizată.*

***„A" – faza de butonizare a plantei, „B" – faza de butonizare-înflorire.*

Compararea variantelor „LDPE", „LDPE+RZ" și „NM+LDPE+RZ" a evidențiat capacitatea NM de a neutraliza acțiunea toxică a LDPE. Dacă în varianta „LDPE+RZ" nu au fost observate diferențe statistic veridice față de martorul cu LDPE, în varianta „NM+LDPE+RZ" masa uscată a plantei a crescut veridic cu 41.9%, iar numărul și masa nodozităților – respectiv de 4.8 și 4.2 ori. Mai mult decât atât, în acest caz după 6 parametri din 7 nu au fost observate diferențe statistic semnificative cu cea mai pozitivă variantă – „RZ", unde soia bacterizată a fost însămânțată în sol netratat cu LDPE. Ca rezultat, au fost obținute dovezi că NM poate fi utilizată pentru stimularea creșterii plantelor de soia și formării sistemului rizobio-radicular în condițiile solului poluat cu LDPE. Prin urmare, a fost evidențiată posibilitatea utilizării nanoparticulelor de magnetită în cadrul procedeelor de nano-fitoremediere a terenurilor contaminate cu acest poluant.

Concluzii

1. Acumularea în sol a plasticului sub forma de polietilenă (LDPE) inhibă creșterea plantelor de soia și formarea sistemului rizobio-radicular.
2. Bacterizarea semințelor de soia cu *Rhizobium japonicum* RD2 stimulează creșterea și dezvoltarea plantelor, dar nu este efectivă în condițiile solului poluat cu LDPE.
3. Nanomagnetita are capacitatea de a stimula formarea sistemului rizobio-radicular a soii în condițiile solului nepoluat cu LDPE.
4. Nanomagnetita poate neutraliza acțiunea toxică a LDPE asupra soii, stimulează dezvoltarea plantelor și formarea sistemului rizobio-radicular.
5. Nanoparticulele de magnetită pot fi testate în cadrul procedeelor de nanofitoremediere a terenurilor poluate cu LDPE.

Bibliografie:

1. Afzal M., Khan Q.M., Sessitsch A. Endophytic bacteria: prospects and applications for the phytoremediation of organic pollutants. Chemosphere. 2014, 117C, 232-242.
2. Aswale P., Ade, A. Assessment of the biodegradation of polythene. Bioinfolet, 2008, 5, 239.

3. Bhatia et al. Implicating nanoparticles as potential biodegradation enhancers: a review. Journal of Nanomedicine and Nanotechnology. 2013, 4:4. DOI:10.4172/2157-7439.1000175.
4. Contat-Rodrigo, I., Ribes Greus, A. Biodegradation studies on LDPE filled with biodegradable additives: morphological changes. Journal of Applied Polymer Science, 2002**,** 83-8, 1683-1691.
5. Corcimaru S. et al. The impact of magnetite nanoparticles on the soil microbial biomass. International Scientific Conference on Microbial Biotechnology 3rd edition. 12-13 October 2016, Chisinau, 29. ISBN 978-9975-3129-3-6.
6. Das, M. P., Kumar, S. An approach to low-density polyethylene biodegradation by *Bacillus amyloliquefaciens*. 3 Biotech. 2014, 5, 81-86.
7. Hodson M. E., et al. Plastic bag derived-microplastics as a vector for metal exposure in terrestrial invertebrates. Environmental Science & Technology. 2017, 51**,** 4714-4721.
8. Huerta Lwanga, E. et al. Microplastics in the terrestrial ecosystem: implications for *Lumbricus terrestris* (*Oligochaeta, Lumbricidae*). Environ. Sci. Technol**.** 2016, 50, 2685-2691.
9. Koutny, M. et al. Acquired biodegradability of polyethylene containing prooxidant additives. Polymer Degradation and Stability. 2006, 91, 1495-1503.
10. Kumari, G., Tiwari, A., Yadav, M. LDPE-biodegradation using microbial consortium by the incorporation of Cobalt Ferrite Nanoparticle as the enhancer for biodegradation. International Journal of Advance Engineering and Research Development. 2017, 4-6, 794-800.
11. Lianzhen Li, et al. Effective uptake of submicrometre plastics by crop plants via a crack-entry mode. Nature Sustainability. 2020, 3, 929–937.
12. Nizzetto L., Langaas, S. & Futter, M. Pollution: Do microplastics spill on to farm soils? Nature. 2016, 537, 488.
13. Rajendran, S.D., et al. The role of microbes in plastic degradation. Environmental Waste Management, chapter 12. Editors: Ram Chandra. 2015.
14. Rilling, M.C. et al. Microplastic effects on plants. New Phytologist. 2019, 223**,** 1066-1070.
15. Souza Machado et al. Microplastics as an emerging threat to terrestrial ecosystems. Global Change Biology. 2018, 24, 1405-1416.
16. Srivastav A. et al. (2018) Nano-phytoremediation of Pollutants from Contaminated Soil Environment: Current Scenario and Future Prospects. In: Ansari A., Gill S., Gill R., R. Lanza G., Newman L. (eds) Phytoremediation. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-99651-6_16.
17. Tribedi, P., Sil A.K. Low-density polyethylene degradation by *Pseudomonas sp*. AKS2 biofilm. Environmental Science and Pollution Research. 2013, 20, 4146-4153.
18. Weithmann, N. et al. Organic fertilizer as a vehicle for the entry of microplastic into the environment. Sci. Adv**. 4,** 8060 (2018).
19. Xiao-Dong Sun et al. Differentially charged nanoplastics demonstrate distinct accumulation in *Arabidopsis thaliana*. Nature Nanotechnology. 2020, 15, 755–760.
20. Назаров А. В., Иларионов С. А. Потенциал использования микробно-растительного взаимодействия для биоремедиации. Биотехнология. 2005, 5. С.54
21. Онофраш Л. Ф., Якимова М. Ф., Ковальжиу А. И., Волоскова М. М. Биопрепараты клубеньковых бактерий для активизации процесса фиксации атмосферного азота. В: Симбиотическая азотфиксация и пути ее повышения. Кишинев «Штиинца». 1992. С. 121.

Rezultatele prezentate au fost obținute în cadrul Proiectului 20.80009.7007.03 „Potențialul microbiologic în degradarea deșeurilor de plastic nereciclabil, finanțat de ANCD”.

SCREENING OF LOW DENSITY POLYETHYLENE DEGRADING MICROORGANISMS

https://doi.org/10.52757/imb21.003

Rastimesina Inna, Postolachi Olga, Josan Valentina, Cotoman Alina, Mamaliga Vera
Institute of Microbiology and Biotechnology, the Republic of Moldova
email: rastimesina@gmail.com

Abstract

Bacteria, actinobacteria, and micromycetes stored in the National Collection of Non-Pathogenic Microorganisms (CNMN) were assessed for the capacity to grow and degrade LDPE. There were tested 15 strains of bacteria from genera *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces*, and *Rhodococcus*, and 15 strains of micromycetes from genera *Penicillium* and *Aspergillus*. Among the studied bacterial strains, actinobacteria were more effective in LDPE degradation than bacilli and *Pseudomonas* spp. The members of genus *Penicillium*, in comparing with *Aspergillus* spp., degraded LDPE more actively.

Key words: *bacteria, micromycetes, LDPE, degradation.*

Introduction

The widespread use of plastics in the modern economy is due to their versatile properties, such as waterproof, strong, easily shaped and the ability to be rigid or flexible. The stability, durability and low price of plastics have led to the replacement of natural materials and common use as household items since the 1960s (8, 11).

There are about 20 different groups of plastics, each with numerous grades and varieties. Approximately 92% of synthetic plastics represent polyethylene and polypropylene, which are used for the production of plastic bags, disposable containers, bottles, packaging materials, etc. (1, 6, 10).

Polyethylene, the most common plastic, has become a major source of environmental pollution because it is a highly recalcitrant and inert synthetic material and is very difficult to degrade in the environment. The natural degradation of low density polyethylene (LDPE, PE-LD) depends on polymer properties, such as water insolubility, the hydrophobicity, degree of crystallinity and molecular weight, and a number of various environmental factor including temperature, air humidity, moisture content, pH, solar energy (3, 5, 6).

The traditional methods for plastic waste dispose are recycling, incineration and landfilling, but these methods are costly and often create new environmental difficulties. When compared to other methods, biodegradation is the best method, because it is cheap and does not generate harmful pollutants. Biodegradation involves the use of various species of bacteria and fungi or microbial communities, isolated from various terrestrial or aquatic habitats, which are able to modify and consume the plastic polymers as a source of energy (2, 3, 4, 7, 9).

In the process of biodegradation, microorganisms influence the destruction of synthetic polymers by secreting extracellular enzymes and free radicals able to cleave polymer into oligomers, dimers and monomers. One of the most reliable approaches to achieve polyethylene degradation is the selection of microorganisms that use the polymer as sole carbon source (2, 3, 4, 12).

The purpose of present study was to evaluate the capacity of microorganisms to grow and degrade low density polyethylene.

Material and methods

The microorganisms isolated previously in the laboratory of Soil Microbiology and stored in the National Collection of Non-Pathogenic Microorganisms (CNMN) were selected according to their capacity to grow and degrade LDPE.

There were tested 15 strains of bacteria: 4 members of the genus *Pseudomonas* spp. (*P. fluorescens*, *Pseudomonas* sp. 7, *Pseudomonas* sp. 970, *Pseudomonas* sp. 1249), 2 members of the genus *Bacillus* spp. (*B. subtilis* CNMN-BB-01, *B. subtilis* var. *mesentericus* CNMN-BB-02), and 9 members of the phylum *Actinobacteria* (*Rhodococcus rhodochrous* CNMN-Ac-05, *Streptomyces*

sp. 0312, *Streptomyces* sp. 0412, *Streptomyces* sp. 0512, *Streptomyces* sp. 0612, *Streptomyces* sp. 0513, *Streptomyces* sp. 0613, *Streptomyces* sp. 0713, *Streptomyces* sp. 0813).

From the collection of fungi, 15 strains were selected: 7 members of the genus *Penicillium* spp. (*P. funiculosum* CNM-FP-01, *P. expansum*, *Penicillium viride* CNMN-FD-04, *P. verrucosum* CNM-FP-02, *P. corylophilum* CNMN-FP-04, *P. vermiculatum*, *P. camemberti* CNM-FP-03), and 8 members of the genus *Aspergillus* spp. (*A. niger*, *A. terricola*, *A. caespitosus*, *A. flavus*, *A. wentii*, *A. ustus*, *A. alliaceus* CNM-FA-01, *A. fumigatus* CNM-FA-02).

Equal-sized squares of LDPE films were cut (2 × 2 cm), weighed and sterilized by washing with 70% alcohol for 15 min, and treated with UV-rays for 1 hour twice.

The ability of microorganisms to grow in the presence of LDPE was studied on different solid media: Czapek's agar with glucose (pH 5.5 for micromycetes and pH 7.3 for streptomycetes), Nutrient agar (Oxoid, England) – for members of g. *Pseudomonas* and g. *Bacillus* and Tryptic Soy agar (Sigma-Aldrich) – for rhodococci.

The microorganisms were inoculated by the spread plate technique. One milliliter of suspension was spread over the surface of the agar in lawn plate and then the sample of LDPE film (2 × 2 cm) was placed in the centre. The Petri dishes were incubated in a thermostat at 28°C for 30 days.

After 30 days of cultivation, the LDPE films were recovered, washed with sterile distilled water, and air-dried. Weight loss of the LDPE films was measured and refers to the difference in weight between the initial and final weight of LDPE. The weight loss was measured by using the following formula:

Weight loss (in %) = [(Initial Weight − Final Weight)/Initial Weight] × 100.

The surface of the air-dried LDPE films was examined under an optical microscope.

Results and discussion

As known, bacteria can growth on the surface of plastic, forming a biofilm, and leading to changes in physico-chemical properties, such as weight loss, structural deterioration and degradation of polymers (6, 12). Figure 1 shows the grade of LDPE biodegradation in the presence of members of the genus *Pseudomonas* spp. after 30 days of surface cultivation.

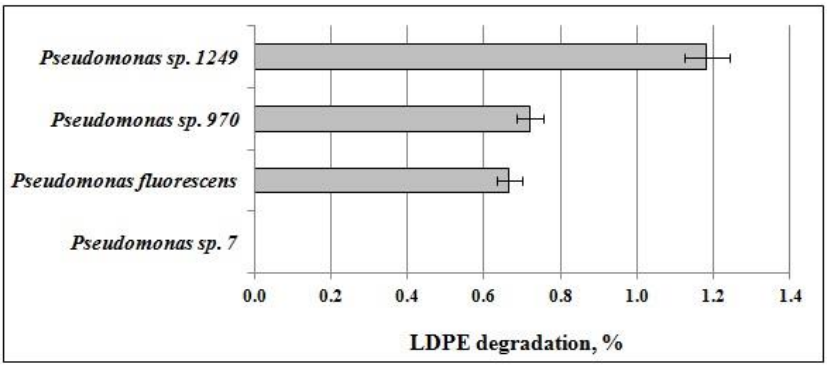


Fig. 1. The grade of LDPE biodegradation in the presence of members of the genus *Pseudomonas* spp.

The direct contact between bacterial cells and surface of polyethylene films increased the grade of biodegradation up to 0.86% for *Pseudomonas* spp. in average. The biggest weight loss of LDPE occurred in the presence of strain *Pseudomonas* sp. 1249 – 1.18%. The biodegradation of polyethylene was insignificant for bacilli – about 0.23% (*Bacillus subtilis* CNMN-BB-01).

The average grade of LDPE biodegradation in the presence of the members of the phylum *Actinobacteria (*including strain *Rhodococcus rhodochrous* CNMN-Ac-05) after 30 days of surface cultivation was 1.00%, and for members of the genus *Streptomyces* spp. made up 0.93% (figure 2). The most effective was strain *Streptomyces* sp. 0813 – plastic weight loss made up 1.57%, and *R. rhodochrous* CNMN-Ac-05 – 1.55%.

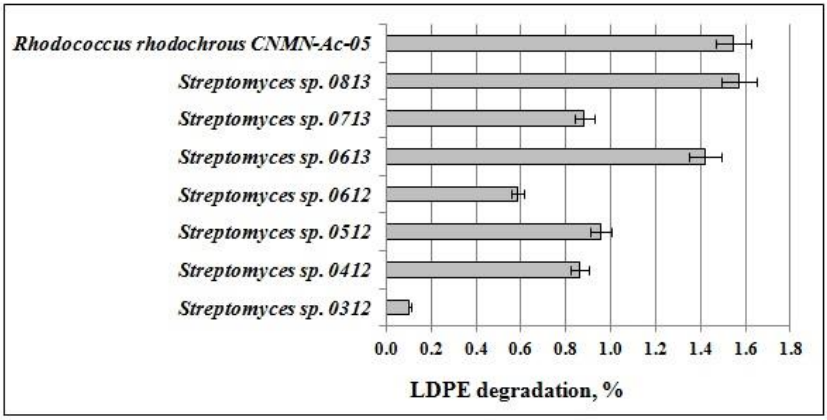


Fig. 2. The grade of LDPE biodegradation in the presence of members of the phylum *Actinobacteria*.

As follows from the presented results, micromycetes turned out more efficient LDPE destructors than bacteria. The average percentage of LDPE degradation by fungi was 2.39%, compared to bacteria – about 1%.

Figure 3 shows the grade of LDPE biodegradation in the presence of micromycetes of the genus *Aspergillus* spp. after 30 days of surface cultivation.

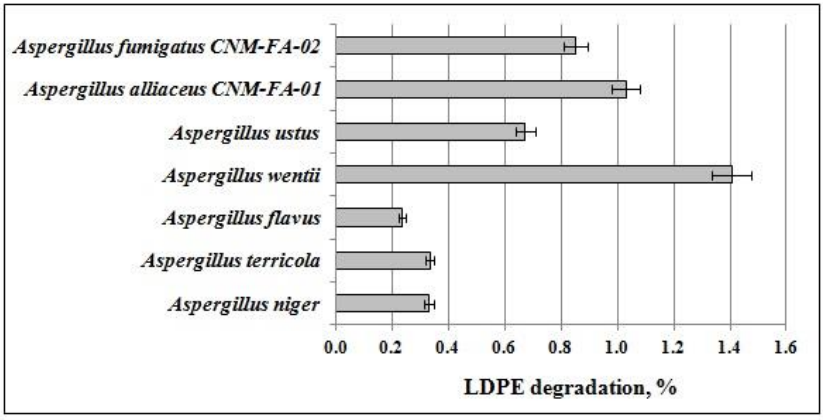


Fig. 3. The grade of LDPE biodegradation in the presence of members of the genus *Aspergillus* spp.

The average grade of LDPE destruction caused by the members of the genus *Aspergillus* spp. was 0.69%. The rate of biodegradation was within 0.24% for *Aspergillus flavus* and 1.41% for *Aspergillus wentii*.

The LDPE biodegradation in the presence of micromycetes of the genus *Penicillium* spp. after 30 days of surface cultivation is presented in Figure 4.

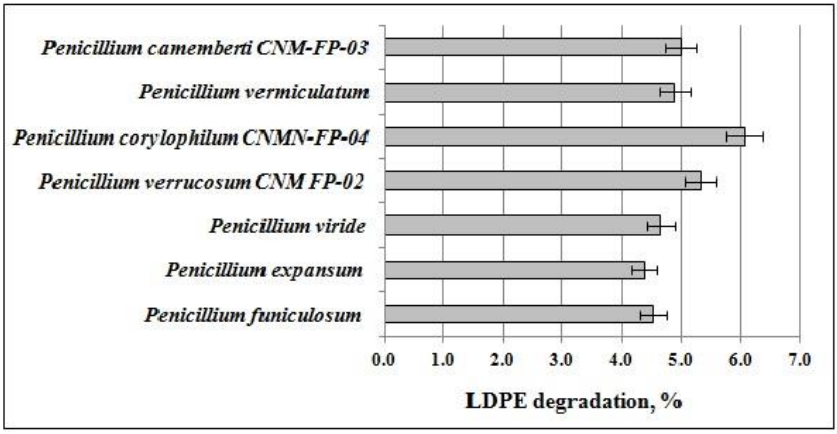


Fig. 4. The grade of LDPE biodegradation in the presence of members of the genus *Penicillium* spp.

Surface cultivation of *Penicillium* spp. with polyethylene enhanced the biodegradation of LDPE up to 4.98% on the average. *Penicillium corylophilum* CNMN-FP-04 was noted as the most active destructor, the dry weight of LDPE decreased by 6.06%.

Visual observations and optical microscopy revealed the active growth of microorganisms on the surface and beneath the polyethylene films (figures 5 and 6). The optical microscopy showed the immobilization of microorganisms on the surface of the plastic films and traces of damage on the surface of polyethylene from the contact with microbial cells (figure 7).

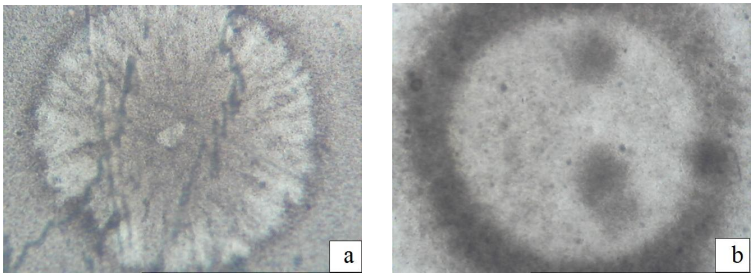


Fig. 5. Growth of colonies of microorganisms beneath the LDPE films: a) *Rhodococcus rhodochrous* CNMN-Ac-05; b) *Streptomyces* sp. 0713.

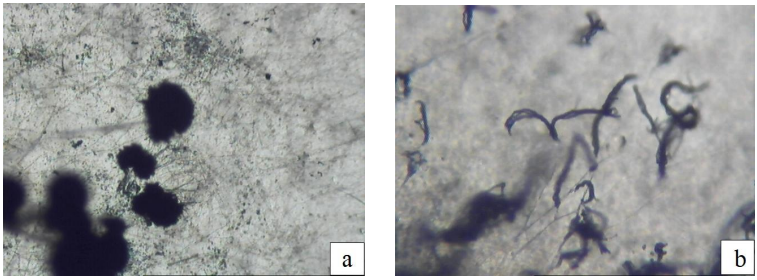


Fig. 6. Growth of micromycetes on the surface of the LDPE films:
a) *Aspergillus alliaceus* CNM-FA-01; b) *Penicillium verrucosum* CNM-FP-02

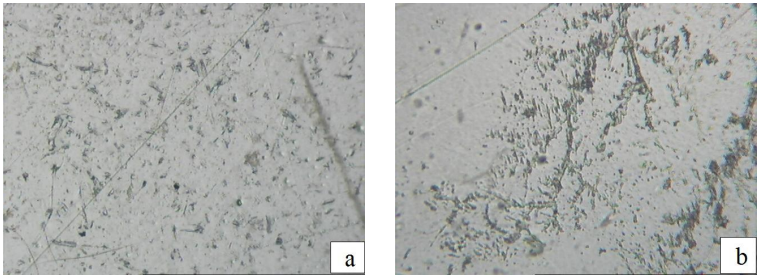


Fig. 7. Traces of damage on the surface of the LDPE films caused by bacteria:
a) *B. subtilis* CNMN-BB-01; b) *Pseudomonas fluorescens*.

Conclusions

Screening of bacterial and fungal strains for the ability to degrade polyethylene has shown that all of the tested species, more or less, are able to grow on the LDPE surface and use it as a carbon source. Among the studied bacterial strains, actinobacteria were more effective in LDPE degradation than bacilli and *Pseudomonas* spp.

Micromycetes turned out more efficient LDPE destructors, than bacteria. Of the two genera of tested fungi (*Aspergillus* and *Penicillium*), the *Penicillium* spp. more actively degraded LDPE. Direct contact between microbial cells and polyethylene during surface cultivation of *Penicillium* spp. enhanced the biodegradation of LDPE, up to 6.06% in case of *Penicillium corylophilum* CNMN-FP-04.

References:

1. APME. An Analysis of Plastics Production, Demand and Recovery in Europe. Association of Plastics Manufacturers, Brussels, 2006.
2. Bakht A., Rasool N., Iftikhar S. Characterization of plastic degrading bacteria isolated from landfill sites. *International Journal of Clinical Microbiology and Biochemical Technology*, 2020, 3: 030-035.
3. Devi R.S., Kannan V.R., Natarajan K., Nivas D., Kannan K., Chandru S., and Antony A.R. (2016) The role of microbes in plastic degradation. In: Environ Waste Manage. Chandra R. (Ed.), United States: CRC Press. pp. 341–370.
4. Divyalakshmi S., Subhashini A. Screening and isolation of polyethylene degrading bacteria from various soil environments. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 2016, 10(12): 1-7.

5. Flores M. C. Plastic materials and environmental externalities: structural causes and corrective policy. *Lethbridge Undergraduate Research Journal*, 2008, 3(2): 1-6.
6. Ghatge S., Yang Y., Ahn J.H., et al. Biodegradation of polyethylene: a brief review. *Applied Biological Chemistry*, 2020, 63:27.
7. Head I.M., Swannell R.P. Bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminants in marine habitats. *Current Opinion in Biotechnology*, 1999, 10: 234-239.
8. Isobe A., Iwasaki S., Uchida K., Tokai T. Abundance of non-conservative microplastics in the upper ocean from 1957 to 2066. *Nature Communication*, 2019, 10(1): 417.
9. Mody A.S. Biodegradable plastics. *Plastic packaging*, 2000, 45: 89-91.
10. Plastics Europe, Plastics – the facts. An analysis of European plastics production, demand and waste data. Plastics-Europe, Belgium. 2018.
11. Rose R.S., Richardson K.H., Latvanen E.J., et. al. Microbial degradation of plastic in aqueous solutions demonstrated by CO_2 evolution and quantification. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(4):1176.
12. Wilkes R.A., Aristilde L. Degradation and metabolism of synthetic plastics and associated products by *Pseudomonas* sp.: capabilities and challenges. Journal of Applied Microbiology, 2017, 123, 582-593.

This work has been realized with the support of State Program Project 20.80009.7007.03 „Microbial tools for degradation of non-recyclable plastics waste" (2020-2023).

RĂSPUNSUL CIANOBACTERIEI *ARTHROSPIRA PLATENSIS* (SPIRULINA) LA PREZENȚA ÎN MEDIUL DE CULTIVARE A NANOPARTICULELOR DE Au ȘI Ag STABILIZATE CU POLIETILENGLICOL

https://doi.org/10.52757/imb21.004

Rudi Ludmila, Cepoi Liliana, Chiriac Tatiana, Miscu Vera, Rudic Valeriu
Institutul de Microbiologie de Biotehnologie, Republica Moldova
e-mail: rudiludmila@gmail.com

Introducere

Datorită proprietăților sale chimice, fizice, optice și biologice, nanoparticulele sunt prezente în toate domeniile vieții. Proprietățile antibacteriene inerente ale nanoparticulelor de argint (AgNP) și rentabilitatea utilizării lor au avut ca rezultat creșterea ariei de aplicare care a cuprins cele mai variate domenii: ambalajele pentru produsele alimentare, producerea de textile rezistente la miros, diverse electronice și electrocasnice, dispozitive medicale, inclusiv pansamente, produse cosmetice, agenți de curățare și aditivi alimentari (Duran, 2013). Aurul, fiind un element coloidal, este folosit de ani de zile ca vector în terapia tumorală. Nanoparticulele de aur (AuNP) sunt utilizate în producerea de conductoare și catalizatori, în calitate de componente pentru cosmetice anti - îmbătrânire; în fabricarea de coloranți și producerea dispozitivelor de memorie (Boxall, 2007, Klaine, 2008, Renault, 2008, Gerber, 2013, Yah, 2013). Nanoparticulele de aur sunt cunoscute pentru diverse aplicații medicale și activități biologice (Hu, 2020).

Majoritatea studiilor acțiunii nanoparticulelor asupra microalgelor și cianobacteriilor au ca scop determinarea efectului toxic asupra organismelor acvatice. În sistemele acvatice, microorganismele fotosintezatoare sunt ținta inevitabilă pentru majoritatea poluanților prezenți în mediu. Argintul se consideră a fi cel mai toxic metal pentru organismele vii, după mercur (Kennedy, 2010). Mecanismele de toxicitate ale AgNP includ aderența la membrane cu modificarea proprietăților ei, cum ar fi permeabilitatea sau transportul de ioni, inhibiția sintezei și deteriorarea ADN - lui; generarea de SRO (Kedziora, 2013). Au fost propuse două tipuri de toxicitate ale AgNP, evidențiate pentru microalge: (1) efectele toxice directe care au la bază compoziția chimică și reactivitatea cu membranele și (2) efectele toxice indirecte cauzate, în principal, de eliberarea de ioni toxici (Navarro, 2008). Una din cauzele efectului toxic indirect al AgNP de dimensiuni mici a fost presupusă a fi capacitatea lor de a forma agregate și/sau de a se absorbi pe suprafața membranelor (Di He, 2012).

Aurul este considerat a avea o toxicitate scăzută pentru organisme, spre deosebire de varianta lui nano (Auffan, 2009, Perreault, 2012). În general, pentru organismele acvatice, toxicitatea AuNP pare a fi mai mică decât cea a AgNP (Joubert și colab., 2013).

A fost demonstrat, că nanoparticulele de aur și argint cu dimensiuni mici, nefuncționalizate se consideră a fi mai toxice pentru unele specii de microalge de apă dulce, astfel ca *Chlamydomonas reinhardtii* și marine *Phaeodactylum tricornutum* (Moreno, 2015, Sendra, 2017).

Sunt cunoscute studii care, însă, nu au putut demonstra stabilizarea nanoparticulelor cu învelișuri organice în calitate de factor care ar minimaliza efectul toxic al lor. Astfel, a fost demonstrată toxicitatea nanoparticulelor de Ag stabilizate cu Poly N-vinyl-2-pirrolidone/Polyethyleneimine (PVP/PEI) pentru microalga *Phaeodactylum tricornutum.* S-a presupus implicarea componentelor învelișului în formarea de conglomerate mici cu o mai mare afinitate pentru membrana celulară algală (Schiavo, 2016). Nanoparticulele de Au stabilizate cu PVP s-au dovedit toxice pentru microalga verde *Desmodesmus subspicatus*, rezultatul fiind similar AuNP nestabilizat.

Nanoparticulele de aur stabilizate cu manoză au indus agregarea celulară în cultura microalgei *Chlamydomonas reinhardtii* (Perreault, 2012). Efectul de reducere cu 50% a productivității microalgelor *Chlorella autotrophyca*, *Nannochloris atomus* și *Phaeodactylum tricornutum*, a fost obținut în prezența concentrației AuNP stabilizate cu citrat (Moreno, 2015). O reducere a productivității microalgei *Chlorella vulgaris* a fost stabilită și în cazul AgNP cu înveliș

din glucoză. În cazul dat, a fost presupusă toxicitatea directă a nanoparticulelor, produsă de disocierea lor cu formarea de ioni activi care au inhibat multiplicarea celulelor (Mariano, 2020).

Aplicarea nanoparticulelor de aur și argint stabilizate cu polietilenglicol, de dimensiuni mici au stimulat, în condiții de laborator, productivitatea microalgei halofile *Dunaliella salina* și conținutul de β-caroten în biomasă (Maftei, 2018). A fost determinat efectul de stimulare a productivității microalgei *Raphidocelis subcapitata* la concentrația de 0,014 mg/ml AuNP(PVP) cu dimensiunea cuprinsă între 20 - 50 nm (Dedcova, 2014).

Dimensiunile mici și învelișul din polietilenglicol au determinat toxicitatea joasă a nanoparticulelor de aur și argint pentru cianobacteria *Spirulina platensis.* Nanoparticulele de aur și argint cu dimensiunea de 4,7 nm (TEM), în polietilen glicol au sporit cu 24 - 36% producerea de biomasă de spirulină (Cepoi, 2020).

Un factor important în dezvoltarea impactului nanoparticulelor asupra microalgelor și cianobacteriilor este vârsta culturii la care aceasta a fost supusă contactului cu nanoparticulele. Nanoparticulele de Ag stabilizate cu citrat, în concentrația de 46 μM au determinat inhibiția creșterii microalgei *Chlamydomonas reinhardtii* în lag faza și nu au reținut creșterea culturii la contactul ei cu nanoparticulele în faza staționară (Moreno, 2015). Sporul de biomasă a microalgei *Dunaliella salina* a rezultat la interacțiunea ei cu AgNP sau AuNP în lag faza și a fost înregistrat la sfârșitul unui ciclu de cultivare (Mafei, 2018).

Scopul lucrării: stabilirea răspunsului cianobacteriei *Arthrospira platensis* (spirulina) la prezența în mediul de cultivare a nanoparticulelor de Au și Ag stabilizate cu polietilen glicol.

Material și metode

Tulpina cianobacteriană, mediul și condițiile de cultivare:

Studiul a fost realizat pe tulpina cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-02 (spirulina), depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Nepatogene. Pentru creșterea spirulinei, s-a utilizat mediul nutritiv mineral cu următoarea componență chimică: 1) Macroelemente în g/l: $NaNO_3$ - 2,5; $NaHCO_3$ - 8,0; NaCl - 1,0; K_2SO_4 - 0,6; Na_2HPO_4 - 0,2; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,2; $CaCl_2$ -0,024 și 2) microelemente în mg/l: H_3BO_3 - 2,86; $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ - 1,81; $ZnSO_4$ - 0,22; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ - 0,08; MoO_3 - 0,015; Fe+EDTA - 1ml/l;

Durata ciclului de cultivare a fost de 6 zile cu menținerea următorilor parametri: pH-ul 8 - 10, temperatura de 28 - 30^0C, iluminarea de 37 - 55 μM photons/m^2s și agitare periodică. Cantitatea de inoculum a fost de 0,4 - 0,45 g/l în recalcul la biomasa absolut uscată.

Suspensia de nanoparticule:

Nanoparticulele de aur și argint cu dimensiunea ≤ 5 nm, în înveliș din polietilenglicol (PEG) sub formă de suspensie (în continuare în text – nanoparticulele de aur și argint, sau AuNP, AgNP).

Expunerea culturii de spirulină acțiunii nanoparticulelor:

Au fost modelate două variante experimentale: (1) acțiunii nanoparticulelor de aur și argint a fost supusă cultura de spirulină la începutul fazei de latență. În acest scop, concentrațiile selectate de nanoparticule de aur și argint au fost suplimentate la mediul de cultură; 2) acțiunii nanoparticulelor de aur și argint a fost supusă cultura la începutul fazei de creștere exponențială. Pentru aceasta, concentrațiile selectate de nanoparticule au fost suplimentate la cultura de spirulină în a 3-a zi de cultivare.

Determinarea conținutului de biomasă. Prepararea probelor pentru analiza biochimică:

Cantitatea de biomasă cianobacteriană în probe a fost determinată spectrofotometric cu înregistrarea absorbanței suspensiei celulare la 680 nm și recalculul în g/l, efectuat în baza curbei de calibrare.

Pentru prepararea probelor pentru analiza biochimică, biomasa de spirulină s-a separat de lichidul cultural prin filtrare și s-a standardizat cu apă distilată la concentrația finală de 10 mg/ml. Probele obținute s-au supus procedurii de congelare – decongelare repetate.

Determinarea conținutului de clorofilă și β-caroten:

Conținutul de clorofilă și β-caroten s-a determinat în extractele etanolice, obținute în baza biomasei de spirulină. Raportul reactant a fost de 10 mg biomasă la 1,0 ml alcool etilic de 96%.

Extragerea pigmenților s-a efectuat la temperatura camerei, prin agitare timp de 120 min. Extractele s-au obținut prin centrifugare la 11000 rpm timp de 10 min. S-a înregistrat absorbanța probelor la lungimile de undă de 450 nm și 665 nm. Calculul cantitativ al pigmenților s-a efectuat în baza formulelor:

1) Clorofila *a* (mg/ml) = 13,15•A_{665}•10, unde A_{665} - absorbanța la 665 nm (Sukenik, 1989);

2) β-Caroten (mg/100g) = A_{450}•10^3/2620, unde A_{450} = absorbanța extractului etanolic la 450 nm; 2620 - coeficientul de extincție specific β-carotenului în etanol (Rodriguez-Amaya, 2001).

Rezultate și discuții

Conform rezultatelor înregistrate, introducerea nanoparticulelor de Ag în prima zi a ciclului de creștere, în concentrațiile de 1,25 - 5,0 μM, a produs un efect favorabil asupra conținutului de biomasă, care a crescut cu 12 - 25% comparativ cu martorul (Tab. 1). Nivelul maximal de cantitate de biomasă produsă de către spirulina a fost determinat la aplicarea concentrației de 3,75 μM AgNP. Concentrația nanoparticulelor de 10 μM a redus cu 10% conținutul de biomasă cianobacteriană.

Tabelul 1. Biomasa de spirulină, obținută la cultivare în prezența AgNP aplicate în două variante experimentale: (1) în prima zi de cultivare și (2) în a 3-a zi de cultivare

AgNP(PEG), μM	Martor	1,0	1,25	2,5	3,75	5,0	10,0
(1) biomasa, g/l	0,95±0,06	1,01±0,011	1,06±0,02	1,13±0,015	1,19±0,013	1,15±0,025	0,85±0,012
(2) biomasa, g/l	0,95±0,06	1,014±0,01	1,08±0,01	1,14±0,016	1,18±0,011	1,18±0,021	1,05±0,031

Nanoparticulele de Ag suplimentate la cultura de spirulină în ziua a 3-a a ciclului de cultivare care corespunde începutului fazei de creștere exponențială, au manifestat un efect similar de stimulare a producerii de biomasă (Tab. 1). Concentrațiile de 1,25 - 5,0 μM AgNP au sporit conținutul biomasei cu 14 - 24%. Concentrația de 10 μM nanoparticule, suplimentate la cultura de spirulină la începutul fazei exponențiale, s-a manifestat în calitate de stimulator al producerii de biomasă, care a crescut cu 10%. Concentrația de 1,0 μM AgNP s-a manifestat ca fiind inertă sau indiferentă pentru cultura de spirulină.

Nanoparticulele de Au, suplimentate la mediul de cultivare al spirulinei în concentrațiile de 1,0 - 5,0 μM au stimulat cu 12 - 21% producerea de biomasă, conținutul maximal, de 1,16 g/l, fiind obținut în prezența a 2,5 μM AuNP (Tab. 2). Introducerea nanoparticulelor de aur la cultura de spirulină care a trecut de faza de latență, a deplasat efectul de stimulare al nanoparticulelor de la concentrația de 1,0 μM la cea de 1,25 μM. Astfel, concentrațiile de 1,25 - 5,0 μM, aplicate la cultura de spirulină în ziua a 3-a a ciclului de cultivare, au stimulat cu 16 - 23% producerea și acumularea biomasei.

Tabelul 2. Cantitatea de biomasă (g/l), obținută la cultivarea spirulinei în prezența AuNP aplicate în două variante experimentale: (1) în prima zi de cultivare și (2) în a 3-a zi de cultivare

AuNP(PEG), μM	Martor	1,0	1,25	2,5	3,75	5,0	10,0
(1) biomasa, g/l	0,96±0,02	1,07±0,012	1,08±0,007	1,16±0,012	1,11±0,011	1,15±0,014	0,66±0,03
(2) biomasa, g/l	0,96±0,02	1,01±0,008	1,11±0,011	1,16±0,006	1,18±0,009	1,19±0,011	0,94±0,022

Concentrația de 10,0 μM AuNP, suplimentată în prima zi a ciclului de cultivare a redus cu 31% conținutul de biomasă. Pentru cultura de spirulină, aflată la începutul fazei de creștere

exponențială, concentrația de 10,0 μM AuNP nu a modificat producerea de biomasa care a fost similară martorului.

Pentru nanoparticulele de aur și argint cu dimensiunea de 4,7 nm (TEM), în înveliș din polietilenglicol, concentrațiile cuprinse între 0,025 și 0,5 μM au sporit cu 24 - 36% producerea biomasei de spirulină (Cepoi 2020). În același timp, s-a demonstrat că nanoparticulele de aur și argint cu dimensiuni mici, nefuncționalizate se consideră a fi mai toxice pentru unele specii de microalge de apă dulce și marine (Moreno, 2015). Dimensiunile de 2 nm și 15 nm ale nanoparticulelor de Ag, aplicate în concentrațiile de 10 - 300 μg/l s-au dovedit a fi toxice pentru microalgele *Chlamydomonas reinhardtii* și *Phaeodactylum tricornutum.* În același timp, AgNP cu dimensiunile de 30 - 50 nm în concentrațiile de 10 - 150 μg/l au stimulat creșterea microalgei *Phaeodactylum tricornutum* (Sendra, 2017). Cauza efectului toxic indirect al nanoparticulelor de dimensiuni mici a fost presupusă a fi capacitatea lor de a forma agregate și/sau de a se absorbi pe suprafața membranelor. Un efect toxic direct al nanoparticulelor de Ag poate fi cauzat de ionii de Ag^+ din mediul nutritiv. Nanoparticulele de Ag în concentrația de 50 μM au menținut viabilitatea culturii de *Chlorella vulgaris* la nivelul de 20% celule vii, pe când ionii de Ag^+ în aceeași concentrație - la un nivel de 10% celule viabile, comparativ cu martorul (Di He, 2012).

Nu s-a putut demonstra, în ce măsură stabilizarea nanoparticulelor cu învelișuri organice poate minimaliza efectul toxic al lor. A fost demonstrată toxicitatea AgNP de 5 nm stabilizate cu Poly N-vinyl-2-pirrolidone/Polyethyleneimine (PVP/PEI) pentru microalga *Phaeodactylum tricornutum* față de AgNP de dimensiuni mari de 47 nm nestabilizate. Se presupune implicarea componentelor învelișului în formare de conglomerate mici cu o mai mare afinitate pentru membrana celulară algală (Schiavo, 2016).

A fost determinat efectul de stimulare a productivității microalgei *Raphidocelis subcapitata* la concentrația de 0,014 mg/ml AuNP(PVP). Dimensiunea nanoparticulelor de aur a fost de 43,67± nm (Dedcova, 2014). Nanoparticulele de aur și argint cu dimensiunea ≤ 5 nm, stabilizate cu polietilenglicol în concentrațiile de la 0,025 la 0,5 μM au stimulat producerea de biomasă în cultura de spirulina (Tab. 1 și Tab 2).

Nanoparticulele de aur stabilizate cu manoză, în concentrația de 6 - 12 ng/ml au indus agregarea celulară în cultura microalgei *Chlamydomonas reinhardtii* (Perreault, 2012) . Efectul de reducere a productivității microalgelor *Chlorella autotrophyca*, *Nannochloris atomus* și *Phaeodactylum tricornutum* cu 50% a fost obținut în prezența concentrației de 1,5 μM AuNP stabilizate cu citrat (Moreno, 2015). O reducere a productivității microalgei *Chlorella vulgaris* a fost stabilită și în cazul AgNP cu înveliș din glucoza. În cazul dat a fost presupusă toxicitatea directă a nanoparticulelor produsă de disocierea lor cu formare de ioni activi care au inhibat multiplicarea celulelor (Mariano, 2020).

Concentrațiile mari ale nanoparticulelor sunt considerate a fi cele nefavorabile. Concentrația de 0,025 μM AuNP(PEG) a stimulat cu 36% producerea de biomasă de spirulină (Cepoi, 2020). În studiul dat, analiza productivității și acumulării de biomasă la cultivarea spirulinei în prezența nanoparticulelor de aur și argint de dimensiunea ≤ 5 nm stabilizate cu polietilenglicol, în concentrațiile cuprinse între 1.0 și 10 μM nu au prezentat un careva efect de inhibiție, cu excepția concentrației extreme de 10 μM, pentru care a fost înregistrată o reducere cu 10% a conținutului de biomasă în cazul aplicării AgNP, și cu 30% în cazul AuNP (Tab. 1 și Tab. 2).

În varianta experimentală cu aplicarea nanoparticulelor în a 3-a zi a ciclului de cultivare al spirulinei, s-a stabilit o creștere cu 10 % peste nivelul martorului, a conținutului de biomasă, la concentrația de 10 μM AgNP(PEG) (Tab. 1). În varianta cu creșterea culturii de spirulină în prezența a 10 μM AuNP(PEG), suplimentată la începutul fazei de creștere exponențială, a fost determinată lipsa inhibiției producerii de biomasă, conținutul căreia a for similar martorului (Tab. 2).

Prin urmare, în cazul experimental descris, cu aplicarea nanoparticulelor de dimensiuni mici stabilizate cu PEG, vârsta culturii de spirulina a determinat efectul toxic al lor.

A fost studiată implicarea nanoparticulelor în remodelarea conținutului pigmenților fotosintetici.

Conținutul clorofilei și a β-carotenului în biomasă, la cultivarea spirulinei în prezența nanoparticulelor de Ag suplimentate la prima zi, s-a modificat semnificativ (Tab. 3). În limita concentrațiilor de 1,25 - 5,0 μM AgNP, conținutul de clorofilă în biomasă s-a redus cu 14 - 24%. Valorile clorofilei au variat în biomasă între 0,71 și 0,9%. Reducerea cu 32% a conținutului de clorofilă a fost stabilită pentru concentrația nanoparticulelor de 1,0 μM, iar concentrația de 10 μM nu a modificat conținutul clorofilei în biomasa spirulinei. Astfel, modificarea conținutului de clorofilă nu depinde de concentrația administrată a nanoparticulelor de argint.

Tabelul 3. Modificarea conținutului de clorofilă (%) și β-caroten (%) în biomasa obținută la cultivarea spirulinei în prezența AgNP aplicate în două variante experimentale: (1) în prima zi de cultivare și (2) în a 3-a zi de cultivare

AgNP(PEG), μM	Martor	1,0	1,25	2,5	3,75	5,0	10,0
(1) clorofila, % bm	1,05±0,02	0,71±0,012	0,84±0,007	0,9±0,012	0,88±0,011	0,79±0,014	1,02±0,03
(2) clorofila, % bm	1,05±0,02	0,97±0,008	0,92±0,011	0,89±0,006	0,91±0,009	0,90±0,011	0,84±0,022
(1) β-caroten, % bm	0,23±0,01	0,19±0,004	0,21±0,003	0,23±0,006	0,23±0,01	0,20±0,011	0,29±0,002
(2) β-caroten, % bm	0,23±0,01	0,25±0,003	0,24±0,004	0,25±0,007	0,25±0,004	0,25±0,002	0,25±0,004

În cazul contactului cu nanoparticulele de argint a culturii de spirulină la începutul fazei de creștere exponențială a fost stabilită o reducere cu 12-20% a valorilor clorofilei în biomasă. În prezența concentrației de 10,0 μM AgNP, conținutul clorofilei a constituit 0,84% biomasă, ceea ce este cu 20% sub nivelul martorului. A fost stabilită o corelare inversă foarte puternică (r= - 0,947) dintre valorile conținutului de clorofilă și concentrația nanoparticulelor.

În ambele variante experimentale, în biomasa de spirulină, rezultată din cultivare în prezența nanoparticulelor de argint, conținutul de β-caroten nu s-a modificat. La aplicarea nanoparticulelor în prima zi de cultivare a spirulinei, în concentrația de 10,0 μM AgNP, conținutul de β-caroten a sporit nesemnificativ, cu 13%. Pentru cultura de spirulină aflată la sfârșitul fazei de latență, contactul cu nanoparticulele de argint nu a modificat conținutul de β-caroten. Valorile β-carotenului în biomasă spirulinei, obținute prin contactul cu AgNP pe durata exponențială sunt stabile, cu 6 - 8% peste valorile martorului, pentru majoritatea concentrațiilor de nanoparticule aplicate.

Oscilațiile conținutului de β-caroten și clorofilă sunt diferite pentru concentrațiile de 1,0 la 10,0 μM ale nanoparticulelor de aur suplimentate la mediul nutritiv din prima zi de cultivare (Tab. 4).

Tabelul 4. Modificarea conținutului de clorofilă (%) și β-caroten (%) în biomasa obținută la cultivarea spirulinei în prezența AuNP aplicate în două variante experimentale: (1) în prima zi de cultivare și (2) în a 3-a zi de cultivare

AuNP(PEG), μM	Martor	1,0	1,25	2,5	3,75	5,0	10,0
(1) clorofila, % bm	1,06±0,02	1,86±0,012	0,93±0,004	0,75±0,022	0,66±0,006	0,71±0,001	1,08±0,011
(2) clorofila, % bm	1,06±0,02	1,01±0,008	0,96±0,011	0,82±0,012	0,77±0,003	0,66±0,002	0,68±0,002
(1) β-caroten, % bm	0,23±0,01	0,21±0,011	0,23±0,004	0,19±0,004	0,17±0,004	0,18±0,001	0,32±0,002
(2) β-caroten, % bm	0,23±0,01	0,22±0,010	0,25±0,002	0,24±0,010	0,25±0,002	0,26±0,003	0,28±0,001

Conținutul de clorofilă în biomasa, obținută la cultivarea spirulinei cu AuNP, a variat între 0,66 și 1,08%. Efectul de inhibiție asupra conținutului de clorofilă, care s-a redus cu 29 - 33%, a fost stabilit pentru concentrațiile cuprinse între 2,5 - 5,0 μM. Concentrația de 10.0 μM AuNP a menținut valoarea clorofilei în biomasă la nivelul martorului.

Pentru varianta experimentală de suplimentare a nanoparticulelor de Au în a 3-a zi de cultivare a spirulinei, a fost stabilită o corelare inversă puternică (r= - 0,803) dintre concentrația nanoparticulelor și conținutul clorofilei în biomasă. Cele mai reduse valori ale clorofilei, cu 27 - 38% mai mici față martor, au fost determinate pentru concentrațiile de 3,75 - 10,0 μM AuNP.

În biomasa spirulinei, cultivată în prezența nanoparticulelor de aur suplimentate la prima zi, au fost determinate unele modificări ale conținutului de β-caroten. Concentrațiile de 2,5 - 5,0 μM AuNP au sporit conținutul de β-caroten cu 17 - 26%. În prezența a 10,0 μM nanoparticule, conținutul β-carotenului a crescut cu 39%, comparativ cu martorul.

Conținutul de β-caroten nu s-a modificat în biomasa spirulinei, cultivată pe mediul suplimentat cu nanoparticule de aur la începutul fazei de creștere exponențială, determinându-se o tendință de creștere nesemnificativă, cu 8 - 13% față de martor, pentru concentrațiile de 1,25 - 5,0 μM AuNP. În prezența a10,0 μM AuNP, conținutul β-carotenului în biomasă a sporit cu 21%.

Unii autori consideră modificarea conținutului de clorofilă ca indicator al toxicității nanoparticulelor, deoarece există o corelare directă puternică dintre acumularea biomasei algale și conținutul de clorofilă, drept rezultat al contactului cu nanoparticulele (Ksiazyk, 2015).

Impactul nanoparticulelor de Ag și Au asupra conținutului de clorofilă în biomasă poate fi considerat ca rezultat al toxicității nanoparticulelor pentru cultura de spirulină. Pentru nanoparticulele de argint de dimensiuni mici de 2 - 15 nm a fost stabilit efectul de reducere de 1,4 - 1,6% a conținutului de clorofilă *a* în biomasa microalgelor *Chlamydomonas reinhardtii* și *Phaeodactylum tricornutum.* Nanoparticulele de Ag cu dimensiunea de 30 - 50 nm au stimulat sinteza clorofilei în cultura microalgei *Phaeodactylum tricornutum* și nu au modificat conținutul pigmentului în biomasa *Chlamydomonas reinhardtii* (Sendra, 2017).

A fost demonstrată dependența dintre concentrația nanoparticulelor de Ag și durata contactului cu microalga *Chflorella vulgaris*. În prezența concentrațiilor de 1,10, 100 μg/l și 1 mg/l AgNP stabilizat cu glucoză, conținutul de clorofilă în biomasă a scăzut cu 80%. Cultivarea microalgei timp de 7 zile în prezenta AgNP(Glucoză), a rezultat prin reducerea cu 50% a conținutului de clorofilă în biomasă (Mariano, 2020).

Chlorella vulgaris, în faza de creștere exponențială, a fost expusă acțiunii nanoparticulelor de Ag cu dimensiunea de 50 și 100 nm, aplicate în concentrațiile de la 20 la 200 mg/l. Conținutul de clorofilă în biomasă s-a redus cu 40 - 60% comparativ cu martorul. Cel mai mic conținut al clorofilei a fost înregistrat pentru concentrația de 200 mg/l AgNP (Hazeem, 2019). În același timp, pentru concentrațiile de 90-1440 μg/l AgNP, aplicate la cultura microalgei *C. vulgaris* a fost stabilită o creștere cu 80% a conținutului de clorofilă. Cu 77% crește conținutul de β-caroten în biomasă, valoarea maximală fiind înregistrată pentru concentrația de 360 μg/l AgNP (Romero, 2020).

Aplicarea AuNP(PEG) și AgNP(PRG) cu dimensiunea de 5 nm în concentrațiile de la 0,05 la 0,5 mg/l în cultivarea microalgei *Dunaliella salina* au stimulat sinteza β-carotenului cu 20 - 36% (Maftei, 2018).

Concentrațiile de la 0,025 până la 0,5 μM AgNP(PEG), suplimentate la mediul de cultivare nu au modificat conținutul de clorofilă și β-caroten în biomasă. Nanoparticulele de aur, suplimentate la mediul de cultivare a spirulinei din prima zi a ciclului de cultivare în concentrațiile de 0,025- 0,05 μM au redus cu 19,8-22,5% conținutul de β-caroten și cu 11-14,7% conținutul de clorofilă. Concentrațiile de 0,1-0,5 μM AuNP(PEG) nu au modificat conținutul de clorofilă, conținutul de β-caroten fiind redus cu 8,4% –16,3% (Cepoi, 2020).

Rezumând asupra rezultatelor obținute în acest studiu, se poate presupune, că modificările în conținutul de clorofilă și β-caroten, înregistrate pe durata cultivării spirulinei în prezența nanoparticulelor de aur și argint, sunt rezultatul efectului tipului de nanoparticule, dimensiunii lor și a materialului stabilizator, precum și a concentrațiilor aplicate. În cazul experimental descris, cu

aplicarea nanoparticulelor de dimensiuni mici stabilizate cu PEG, vârsta culturii de *Arthrospira platensis* (spirulina) a determinat efectul toxic al lor, dar nu a exclus implicarea nanoparticulelor în remodelarea conținutului pigmenților fotosintetici.

Bibliografie:

1. Auffan, M., Rose, J., Wiesner, MR., Bottero, J.I. (2009): Chemical stability of metallic nanoparticles: A parameter controlling their potential cellular toxicity *in vitro*. Environmental Pollution, 157(4):1127-1133.
2. Baetke, SC., Lammers, T., Kiessling, F. (2015): Applications of nanoparticles for diagnosis and therapy of cancer. Brit J Radiol 88:20150207. https://doi.org/10.1259/bjr.20150207.
3. Biffi, S., Voltan, R., Rampazzo, E., Prodi, L., Zauli, G., Secchiero, P. (2015): Applications of nanoparticles in cancer medicine and beyond: optical and multimodal *in vivo* imaging, tissue targeting and drug delivery. Expert Opin Drug Del, 12:1837-1849.
4. Cepoi, L., Zinicovscaia, I., Rudi, L., Chiriac, T., Rotari, I., Turchenko, V., Djur, S. (2020): Effect of PEG-Coated Silver and Gold Nanoparticles on *Spirulina platensis* Biomass during its Growth in a Closed System. Coatings, 10, 717. http://dx.doi.org/10.3390/coatings10080717.
5. Dedcova, K., Bures, Z., Palarcik, J., Vlcek, M., Kukutschova, J. (2014): Acute aquatic toxicity of gold nanoparticles to freshwater green algae. NanoCon, 6th International Conference, Brno, Czech Republic.
6. Dewez, D., Oukarroum, A. (2012): Silver nanoparticles toxicity effect on photosystem II photochemistry of the green alga *Chlamydomonas reinthardtii* treated in light and dark conditions. Toxicological and Environmental Chemistry, 94(8): 1536-1546.
7. Duran, N., Marcato, P.D. (2013): Nanobiotechnology perspectives: role of nanotechnology in the food industry: a review. Int J Food Sci Technol 48:1127–1134.
8. Gerber, A., Bundschuh, M., Klingelhofer, D., Groneberg, D.A. (2013): Gold nanoparticles: recent aspects for human toxicology. J Occup Med Toxicol., 8(1):32. doi:10.1186/1745-6673-8-32.
9. Hazeem, L.J., Kuku, G., Dewailly, E., Slomianny, C., Barras, A., Hamdi, A., Boukherroub, R., Culha, M., Bououdina, M. (2019): Toxicity effect of silver nanoparticles on photosynthetic pigment content, growth, ROS production and ultrastructural changes of microalgae *Chlorella vulgaris*. Nanomaterials, 9(914). https://doi.org/10.3390/nano9070914
10. He Di, Dorantes-Aranda, Juan José, Waite, T. David (2012): Silver Nanoparticle Algae Interactions: Oxidative Dissolution, Reactive Oxygen Species Generation and Synergistic Toxic Effects. Environmental Science & Technology, 46: 8731−8738.
11. Hu, X., Zhang, Y., Ding, T., Liu, J., Zhao, H. (2020): Multifunctional Gold Nanoparticles: A Novel Nanomaterial for Various Medical Applications and Biological Activities. Front. Bioeng. Biotechnol. 8:990. doi: 10.3389/fbioe.2020.00990.
12. Joubert, I., Pan, J-F., Buffet, P-E., Pilet, P., Gilliland, D., Valsami-Jones, E., Mouneyrac, C., Amiard-Triquet, C. (2013): Subcellular localization of gold nanoparticles in the estuarine bivalve *Scrobicularia plana* after exposure through the water. Gold Bulletin, 46:47–56.
13. Kedziora, A., Gorzelanczyk, K., Bugla-Ploskonska, G. (2013): Positive and negative aspects of silver nanoparticles usaje. Biol. Int.,53:67-76.
14. Kennedy, A.J., Hull, M.S., Bednar, A.J., Goss, J.D., Gunter, J.C., Bouldin, J.L., Vikesland, P.J., Steevens, J.A. (2010): Fractionating nanosilver: Importance for determining toxicity to aquatic test organisms. Environ. Sci. Technol., 44: 9571–9577.
15. Klaine, S.J., Alvares, P.J.J., Batley, G.E., Fernandes, T.F., Handy R.D., Lyon D.Y., Maendra, S., McLaughli, M.J., Lead, J.R. (2008): Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects. Environmental Toxicology and Chemistry, 27(8): 1825-1851.
16. Ksiazyk, M., Asztemborska, M., Steborowski, R., Bystrzejewska-Piotrowska, G., (2015): Toxic effect of silver and platinum nanoparticles toward the freshwater microalga

Pseudokirchneriella subcapitata. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 94:554–558.
17. Maftei, E., Rudic, V. (2018): Utilizarea nanoparticulelor de aur și argint în cultivarea microalgei *Dunaliella salina*. Buletinul AȘM. Științele vieții. Nr. 3(336): 159-165.
18. Mariano, S., Panzarini, E., Inverno, M.D., Voulvoulis, N., Dini, L. (2020): Toxicity, Bioaccumulation and Biotransformation of Glucose-Capped Silver Nanoparticles in Green Microalgae *Chlorella vulgaris*. Nanomaterials, 10, 1377; doi:10.3390/nano10071377.
19. Moreno-Garrido, I., Perez, S., Blasco, J. (2015): Toxicity of silver and gold nanoparticles on marine microalgae. Marine Environmental Research, 111: 60-73.
20. Navarro, E., Piccapietra, F., Wagner, B., Marconi, F., Kaegi, R., Odzak, N., Sigg, L., Behra, R., (2008): Toxicity of silver nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. Environ. Sci. Technol. 42(23), 8959-8964.
21. Perreault, F., Bogdan, N., Morin, M., Claverie, J., Popovic, R. (2012): Interaction of gold nanoglycodendrimers with algal cells (*Chlamydomonas reinhardtii*) and their effect on physiological processes. Nanotoxicology, 6(2): 109–120.
22. Rai, M., Kon, K., Ingle, A., Duran, N., Galdiero, S., Galdiero, M. (2014): Broad-spectrum bioactivities of silver nanoparticles: the emerging trends and future prospects. Appl Microbiol Biotechnology, 98:1951–1961.
23. Renalt, S., Baudrimont, M., Dubons, N., Gonzales P., Mornt, S., Brisson, A. (2008): Impact of gold nanoparticle exposure on two freshwater species: a phytoplanktonic alga *Scenedesmus subspicatus* and *Corbicuta fluminea*. Gold Bulletin, 41(2): 116-126.
24. Rodriguez-Amaya, D. (2001): Guide to carotenoid analysis in foods. Washington: International Life Sciences Institute, 65 p.
25. Romero, N., Visentini, Flavia F., Marquez, Vanina E., Santiago, Liliana G., Castro, Guillermo R., Gagneten, Ana M. (2020): Physiological and morphological responses of green microalgae *Chlorella vulgaris* to silver nanoparticles. Environmental Research, 189: 109857, https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109857.
26. Schiavo, S., Duroudier, N., Bilbao, E., Mikolaczyk, M., Schäfer, J., Cajaraville, M.P., Manzo S. (2016): Effects of PVP/PEI coated and uncoated silver NPs and PVP/PEI coating agent on three species of marine microalgae. Science of The Total Environment, 577: 45-53.
27. Sendra, M., Yeste, M.P., Gatica, J.M., Moreno-Garrido, I., Blasco, J. (2017): Direct and indirect effects of silver nanoparticles on freshwater and marine microalgae (*Chlamydomonas reinhardtii* and *Phaeodactylum tricornutum*), Chemosphere, 179: 279-289.
28. Sukenik, A., Carmeli, Y., Berner, T. (1989): Regulation of fatty acid composition by irradiance level in the *Eustigmatophyte Nannochloropsis* sp. Journal of Phycology, 25(4):686-692.
29. Yah, CS. (2013): The toxicity of Gold Nanoparticles in relation to their physiochemical properties. Biomedical Research, 24 (3): 400-413.

Rezultatele științifice descrise în acest articol au fost obținute în cadrul proiectului 20.80009.5007.05 „Nanoparticule metalice biofuncționalizate – obținerea cu ajutorul cianobacteriilor și microalgelor”, finanțat cu suportul Agenției Naționale pentru Cercetare și Dezvoltare (ANCD), Republica Moldova.

CONSIDERAȚII PRIVIND POTENȚIALUL BIOTEHNOLOGIC AL MICROBIOMLUI SOLULUI PENTRU DEZVOLTAREA AGRICULTURII DURABILE

https://doi.org/10.52757/imb21.005

Artiomov Laurenția, Frunze Nina
Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Republica Moldova
e-mail: lara_09@rambler.ru

Creșterea globală a populației și degradarea mediului reprezintă o provocare pentru producția de culturi agricole la nivel mondial și există o necesitate stringentă de a găsi soluții pentru combaterea stresului abiotic, dăunătorilor, agenților patogeni și pentru bioremedierea solului. O posibilitate de creștere a impactului pozitiv al agriculturii organice ar putea fi efectul sinergic al combinării agrotehnicii organice cu utilizarea microorganismelor capabile să realizeze atât promovarea creșterii plantelor, cât și bioremedierea solurilor contaminate, derivate din agricultura intensivă. Pentru a dezvolta o agricultură durabilă, cercetarea se concentrează pe studierea microbiomului solului, deoarece microorganismele solului contribuie la creșterea plantelor, fertilitatea solului și controlul bolilor. Reprezentanții microbiomului solului pot fi utilizați în biotehnologiile de producere a biofertilizatorilor și biopesticidelor. Se observă o intensificare a cercetărilor consacrate proiectării inoculanților bacterieni în amestec, pentru agricultură și pentru bioremedierea solului, dar este necesar să se demonstreze expresia genelor implicate în promovarea creșterii plantelor și bioremediere în direfite condiții de mediu (Baez-Rogelio, 2017).

Metodele clasice de cercetare ale microbiomului solului sunt insuficiente pentru a identifica microorganismele necultivabile. Metagenomica este un instrument care permite analiza rapidă a eterogenității microbiene, ce contribuie la înțelegerea asocierii microorganismelor în mediul lor și funcționarea generală a microbiomului. Secvențierea ARN-ului ribozomal a pus începutul unei noi ere în studierea microorganismelor solului și a permis identificarea microorganismelor ce pot fi utilizate în biotehnologiile agricole.

Printre microorganismele care promovează creșterea plantelor sunt reprezentanți ai următoarelor genuri*: Azospirillum, Azotobacter, Rhizobium, Pseudomonas, Enterobacter, Bacillus, Paenibacillus, Klebsiella, Flavobacterium, Gluconobacter, Penicillium, Trichoderma și Streptomyces*. Microorganismele precum reprezentanții genurilor *Rhizobium, Klebsiella, Clostridium, Penicilium,* speciile *Bacillus megaterium, și Trichoderma viride* îmbunătățesc creșterea și randamentul culturilor, în timp ce *Pseudomonas aureofaciens,* alte specii de *Trichoderma, Streptomyces sp*. pot acționa ca agenți de biocontrol a dăunătorilor și bolilor plantelor (Stamenković, S, 2018).

Cercetările metagenomice ale microbiomului solului de la *Staționarul multianual* al Bazei Experimentale „Biotron", Chișinău s-au realizat în secția TEHNOLOGII GENOMICE ale Centrului științific „Tehnologii genomice, proteomică și biologie celulară" al FSBSI ARRIAM, *Sankt Petersburg, Rusia.* Investigațiile metagenomice relevă faptul că clada constituită din *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium,* care fixează azotul atmosferic, promovează creșterea plantelor și este tolerantă la pesticidul organoclorurat hexaclorciclohexan (HCH), are cea mai mare cotă parte – 1,1 % în asolamentul fără lucernă, varianta *Fond organic* (postacțiune). Genul *Ensifer* , ce include bacterii capabile să inducă formarea nodulilor rădăcinii la leguminoase, a fost depistat doar în asolamentul cu lucernă, varianta *Fond mineral* ($N_{45-90}P_{30-60}K_{60-90}$). Genul *Streptomyces* a avut cea mai mare abundență relativă (1,3%) în asolamentul cu lucernă, varianta *Fond organic* (postacțiune). Streptomicetele aparțin comunităților microbiene din rizosfera plantelor și sunt agenți eficienți de biocontrol.

Secvențierea metagenomică a microbiomului solului este un instrument eficient de identificare a microorganismelor eco - prietenoase cu potențial biotehnologic (promotori ai creșterii plantelor, agenți de biocontrol și bioremediere). Cercetările în acest domeniu sunt de perspectivă.

Lucrarea a fost realizată în cadrul proiectului 20.80009.5107, finanțat de ANCD.

INFLUENȚA ANTIOXIDANȚILOR DE ORIGINE VEGETALĂ ASUPRA INTEGRITĂȚII GAMETOGENEZEI ȘI SĂNĂTĂȚII BIODIVERSITĂȚII

https://doi.org/10.52757/imb21.006

Balan Ion, Roșca Nicolae, Buzan Vladimir, Cazacov Iulia, Balacci Sergiu, Osipciuc Galina, Blîndu Irina, Crețu Roman, Bacu Gheorghii

Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie, Republica Moldova

e-mail: balanion@rambler.ru

Pornind de la morfologia simplă și descriptivă a celulei și țesuturilor, cercetările actuale au penetrat până la nivel molecular. Înțelegerea substratului morfologic a dobândit perspectiva oferită de dinamica proceselor fiziologice și biochimice, implicând mecanisme de acțiune prin intermediul moleculelor, care interacționează, inhibă, stimulează sau reglează solitar sau integrate în diferite căi de semnalizare. În acest context, spermatogeneza, ca proces biologic complex de formare a gameților, dependent de factorii interni sau externi reprezintă etapa finală, când sunt puse bazele informației genetice pentru sănătatea viitorului biodiversității viului. Spermatozoizii, la fel ca toate celelalte celule vii își desfășoară activitatea în condiții aerobe, paradoxal confruntându-se în mod constant cu oxigenul. Oxigenul este necesar pentru a susține viața, însă metaboliții săi, cum ar fi speciile reactive de oxigen (SRO) pot modifica funcțiile celulelor reproductive, punând în pericol supraviețuirea celulară, sau ambele. Generarea excesivă de SRO în materialul seminal poate duce la starea de stres oxidativ (SO), care afectează mobilitatea și viabilitatea spermatozoizilor. Prejudiciul indus de SO spermiilor este condiționat de peroxidarea lipidelor din membrana plasmatică a spermatozoizilor, reducerea mobilității, precum și deteriorarea ADN-ului nuclear și mitocondrial al gameților. Prin urmare, SRO trebuie inactivate continuu pentru a păstra doar o cantitate mică, necesară menținerii funcționalității normale a gameților. Nu este surprinzător faptul, că în cadrul celulelor sunt disponibili diferiți antioxidanți, care pot fi utilizați pentru a proteja împotriva acțiunii oxidanților, în cazul dat la nivelul spermatozoizilor. În timp ce antioxidanții endogeni sunt sintetizați în celule și țesuturi pentru a contracara producția de SRO, cei exogeni sunt capabili să stimuleze producția de enzime endogene. Aceștia pot fi derivați din plante, cu un fitopotențial major asupra fertilității masculine și pentru combaterea SO. Mai mult, studiile au arătat că antioxidanții favorizează menținerea fiziologiei spermatogenezei și a materialului seminal. De exemplu, vitamina C și E protejează sperma de daunele ADN-ului, carnitinele energizează celulele reproductive, iar disfuncționalitatea spermatozoiziilor este determinată de peroxidarea lipidelor și alterarea funcției membranare, dereglarea metabolismului, morfologiei și mobilității. Din cauza numărului mic de enzime citoplasmatice, spermatozoizii, sunt puși în condiții de imposibilitate a reparării daunelor oxidative, care pot fi influențate de antioxidanți. În ultimii ani, numeroase cercetări au fost direcționate la proprietățile antioxidante ale substanțelor derivate din plante asupra calității materialului seminal la animale și la oameni. Acestea protejează spermatozoizii de producerea SRO de către spermatozoizii anormali, neutralizează SRO produse de leucocite, pentru a preveni fragmentarea ADN-ului, îmbunătățește calitatea materialului seminal, reduce criolezarea spermatozoizilor, blochează maturarea prematură a spermei și stimulează activitatea spermatozoizilor. De asemenea, există un interes tot mai mare în utilizarea substanțelor bioactive vegetale, cum ar fi polifenolii, ca antioxidanți în tehnologiile de reproducere a biodiversității viului. Polifenolii pot acționa ca eliminatori ai radicalilor liberi și, uneori, chiar ca chelați ai metalelor. Studiile anterioare s-au concentrat pe utilizarea antioxidanților puternici pentru crioconservarea materialului seminal la mamifere. Cu toate acestea, s-a constatat că unii polifenoli, cum ar fi quercetina, un metabolit secundar din plante, prezintă o activitate antioxidantă mai mare și o toxicitate mai mică decât antioxidanții sintetici. În cercetări s-a argumentat elocvent necesitatea studierii compușilor bioactivi din plante și a înțelegerii structurii lor chimice și a mecanismului lor de acțiune. Astfel, reducerea nivelurilor de SO în procesul de derulare a spermatogenezei influențează parametrii morfofuncționali ai celulelor reproductive, inclusiv ai gameților supuși crioconservării. O serie de mecanisme de apărare pentru antioxidanții de origine vegetală, enzimele antioxidante, vitamine și alte biomolecule sunt critice în sistemul biodiversității viului.

PRESENCE OF *ACTINOBACTERIA* IN THE AQUATIC ECOSYSTEMS OF THE "LA IZVOR" LAKE SYSTEM IN THE CHISINAU CITY

https://doi.org/10.52757/imb21.007

Birsa Maxim, Cebotari Victoria, Burtseva Svetlana
Institute of Microbiology and Biotechnology, the Republic of Moldova
e-mail: mellon23@yandex.ru

It is known that microorganisms play an important role in the ecological and biochemical processes which take place on the Earth. Moreover, *Actinobacteria* are the most important component of the microbial communities responsible in the aquatic ecosystems for the processes of mineralization of organic substances and recycling of nutrients. The study of the microflora in the waters of lakes throughout the Earth showed among the most common types *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Cyanobacteria* and especially *Betaproteobacteria* (up to 60-70 % of the total number of cells), the number of which is high due to increased concentrations of various pollutants in the water. Recent data on the composition of freshwater bacterial communities have shown that representatives of *Actinobacteria* dominate against the background of *Betaproteobacteria*, *Acidobacteria*, *Firmicutes*, and *Chloroflexi* (Eiler, 2005; Lliros, 2014; Benson, 2019; Kurilkina, 2016).

The purpose of the research was to study the diversity of *Actinobacteria* isolated from the biofilm, water column, and the silt bottom sediments of the "La Izvor" lake system in the Chisinau city.

For isolation and quantification of *Actinobacteria*, the method of inoculation on selective agar media was used. For suppressing the growth of other microorganism groups, antibiotics were added. Additionally, compounds that promote the growth of representatives of actinobacteria (soluble starch, oat flour, propionic acid, yeast extract, etc.) were added. This made it possible to identify new strains of *Actinobacteria* – representatives of 8 genera, most often found in the microbial communities of the soil and aquatic environment of the Republic of Moldova: *Actinomadura*, *Actinoplanes*, *Frankia*, *Geodermatophilus*, *Micromonospora*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, and *Streptomyces*.

It was found that most of the representatives of *Actinobacteria* were found in the silt bottom sediments and the water column, and least of all in the biofilm. For example, it was not possible to identify representatives of the genus *Actinomadura* and *Rhodococcus* in the biofilm. *Actinobacteria* of the genus *Actinoplanes*, *Frankia*, *Geodermatophilus*, *Micromonospora*, and *Nocardia* were identified by 1 strain each in biofilm samples, while the genus *Streptomyces* was represented by 4 strains, characterized by active growth of substrate and aerial mycelium on the used agar media. Taking into account the ability of *Actinobacteria* to synthesize substances that are effective means of combating various pathogens (which cause diseases of plants, animals and humans), as well as amino acids, lipids and enzymes; it seems appropriate to deposit the new strains of *Actinobacteria* isolated from the "La Izvor" lake system in the National Collection of Non-Pathogenic Microorganisms and to test them as potential producers of biologically active substances of various chemical nature.

The research was funded by NARD within project 20.80009.7007.09.

GRAPE POMACE AS A FILLER IN WINE VINEGAR FERMENTATION

https://doi.org/10.52757/imb21.008

Boiștean Alina
Technical University of Moldova, 168 Stefan cel Mare Bd., Chisinau, the Republic of Moldova
e-mail: alina.boistean@toap.utm.md

The wine sector in the Republic of Moldova has registered substantial increases in recent years. Viticulture and wine are a business card of our country, internationally recognized. Annually the reports show the processing of around 260 tons of grapes, which indicates that it remains a large source of by-products that must be capitalized.

Wine and vinegar can be easily differentiated in the Republic of Moldova that traditionally produce both products, as the names are well consolidated with a precise meaning. Wine has a minimum content of acetic acid of 1.2 g/L and a maximum ethanol content of 9-15 %. Vinegar has a minimum titratable acidity of 6 % and a maximum residual ethanol content of 1.5 %. Vinegar is the product obtained exclusively through biotechnological processes such as double fermentation: alcoholic and acetic fermentation of the liquid. There are various types of vinegars obtained from various sources such as fruit peels and berry, cider, malt, honey et al. Vinegar production from local agricultural sources has economic benefits, such as the promotion of local human resources and raw materials. The critical steps in vinegar production include raw material preparation and fermentation. Fruits generally require fewer treatments than cereals. Transportation and storage are difficult for perishable fruits with high water content. As a result, industries should be located near raw material production sites. In this work, we investigated the possibility of using the pomace of Muscat grapes as a filler for plantation and the development of acetic acid bacteria.

Grape pomace (*Vitis vinifera Muscat*), fruit of year 2020, from Cimișlia district, Javgur winery, was dried in an industrial drying oven at a temperature of 32 ± 1^{o}C, for 5-6 days until the moisture level reached 8-10±1%. As the liquid part, a local white wine with increased acidity from the Nova variety was used, with the physico-chemical parameters: alcohol - 12,7%, sucrose-4,4%, pH-3,64 at T=20^{0}C. The alcohol concentration was reduced by potable water to 10%. Before using pomace as a surface source for the development of acetic bacteria, it was introduced into the leaven which consisted of untreated vinegar in the ratio 1: 4. The sample was left for 72 h, at the temperature of 25 ± 1°C, for the planting of the solid product with the acetic bacteria from the vinegar to the maximum and for the next use of the pomace in research. Direct sowing confirmed the planting of acetic bacteria on Muscat pomace, the number of bacteria in the vinegar after use as leaven was 2*10 which is twice than initially.

During acetic fermentation, for one month, values such as total titratable acidity, pH, density were monitored. ATT after a month of fermentation in the sample without pomace had only 3.08% while the sample with pomace reached the value of 8.04%, i.e. by almost 3 times more. Also, the influence of pomace on the chromatic parameters of the wine before and after the fermentation process was determined.

Table 1. Chromatic parameters of the pomace sample before and after fermentation

Sample		L*	a*	b*	ΔE*	Chroma*	Hue*	Ic	Nc
TM	*Initial*	17,07±0,10	6,55±0,12	10,57±0,15	41,44±0,13	5,85±0,05	1,02±0,03	0.69 ±0,01	1.96±0,01
	After fer.	18,83±0,05	7,29±0,01	11,61±0,04	39,44±0,04	6,15±0,00	1,01±0,01	2.30±0,02	0.17±0,04

L represents lightness (L = 0, black, and L = 100, colorless), a green/red color component (a* > 0, red, and a* < 0, green), and b* blue/yellow color component (b* > 0, yellow, and b* < 0, blue). IC-colour intensity.*

Based on the results obtained during the study, we can conclude that the use of pomace has a positive effect on the rate of fermentation, and thereby reduces the time of obtaining wine vinegar. This is due to an increase in the contact area of the product with acetic acid bacteria settled on the surface of the pomace, as well as due to the presence of essential nutrients for the normal functioning of acetic acid bacteria in the pomace.

The research was funded by State Project 20.80009.5107.09 "Improving of food quality and safety through biotechnology and food engineering", running at Technical University of Moldova.

EVALUATION OF THE COLOR AS A CHARACTERIZATION PARAMETER OF HONEY FROM TUNISIA, ROMANIA AND MOLDOVA

https://doi.org/10.52757/imb21.009

Boistean Alina, Chirsanova Aurica, Capcanari Tatiana, Siminiuc Rodica
Technical University of Moldova, 168 Stefan cel Mare Bd., Chisinau, the Republic of Moldova
e-mail: alina.boistean@toap.utm.md

Many types of honey can be found in the market which differ in package, price, color or origin. The color of honey is one of its most variable features. Honeys show very different colors, varying from white or pale-yellow to dark red or even black. The color of honey is characteristic of its floral source due to minerals and other minor components. Exposure to heat and storage time may affect honey's color. Honey appears lighter in color after granulation. The colour of a specific sample of honey, after granulation depends on the crystal size. The color of the product is one of the main criteria used by the consumers.

Polyfloral honey is very ubiquitous and therefore it was accepted for the research. This honey was purchased from the market of three different countries: Tunisia, Romania and Moldova, which differ in geographic location and climatic characteristics. Also, from the Republic of Moldova, two types of polyfloral honey from different apiaries located in different regions of the country were studied. The chromaticity coordinates CIELab of honey samples were measured using a chroma meter (KONICA MINOLTA, model CR-400) in an aqueous solution of honey, the instrument was calibrated with a black and white standard plate. Absorbance measurements were carried out using a spectrophotometer (model LLG uniSPEC-2).

Table 1. Physicochemical characteristics by honey type

Colour Parameters		Honey type			
		TPF	RPF	MPF_1	MPF_2
L	Mean ± SD	24,51±0,10	37,64±0,06	27,99±0,12	33,03±0,09
a*	Mean ± SD	3,96±0,05	1,40±0,01	3,25±0,04	2,27±0,01
b*	Mean ± SD	8,64±0,08	20,39±0,05	12,63±0,07	18,96±0,11
ΔE	Mean ± SD	35,17±0,11	21,50±0,09	30,93±0,01	25,51±0,06
Chroma*	Mean ± SD	5,02±0,16	6,60±0,11	5,64±0,18	6,52±0,12
Hue^0	Mean ± SD	1,14±0,07	1,50±0,03	1,32±0,06	1,45±0,03
CI (mAU)	Mean ± SD	0,32±0,01	0,71±0,02	0,68±0,05	0,78±0,01
Pfund (mm)	Mean ± SD	0,13±0,04	0,29±0,05	0,53±0,09	0,43±0,03

L represents lightness (L = 0, black, and L = 100, colorless), a green/red color component (a* > 0, red, and a* < 0, green), and b* blue/yellow color component (b* > 0, yellow, and b* < 0, blue). CI-colour intensity.*

We compared on the basis of palynological, physicochemical analyses and CIELAB color parameters the polyfloral honey from 3 different countries for the first time in the literature. From the data obtained, it was noted that in the parameter L there was no big difference between the samples, but there were differences in the parameters a* and b*. The highest amount of yellow pollen was dominant in the honey from Romania, and the smallest amount of yellow pollen was found in the honey from Tunisia. The ΔE * ab value gives the visible difference between the samples in the white standard. The honeys ranged between 0,13 and 0,53 mm Pfund, that according to the international Pfund scale for honey, Tunisian and Romanian honey was classified as a white honey variety, and Moldavian honey belonged to the honey variety with a color from extra light amber to light amber. Chroma (C*ab) values ranged between 5,02 and 6,60 Cielab units, Lightness (L*) between 24,51 and 37,64 Cielab units, and Hue between 1,140 and 1,500. Based on the obtained results, it was concluded that polyfloral honey from Romania was the most similar to the Moldovan honey, the Tunisian honey, as it was noticed, significantly differed both in color and in other characteristics. This indicates more similar geographic characteristics between Romania and Moldova, as well as the presence of more similar pollen in honey.

The research was possible thanks to the project number 4 of the joint research project organized by the Ministry of Education, Culture and Research of the Republic of Moldova and the University Agency of Francophonie for 2020-2021 (AUF-MECR 20-21/4), conducted within the Department of Food and Nutrition of the Technical University of Moldova.

ROLUL ASOLAMENTELOR FURAJERO-CEREALIERE ÎN PROTEJAREA ŞI REMEDIEREA SOLULUI

https://doi.org/10.52757/imb21.010

Bolocan Nistor, Darie Valerian, Tonu Nicolae, Frunze Nina
Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, Republica Moldova
e-mail: ninafrunze@mail.ru

Culturile furajere, furajero-cerealiere şi leguminoase, care constituie baza producerii nutreţurilor pe terenurile arabile, pot fi folosite pe scară largă şi în calitate de mijloc de ameliorare a echilibrului ecologic în agrolandşaft sub aspectul restabilirii şi stabilizării bilanţului de humus, parametrilor agrofizici şi agrochimici ai solului, precum şi al potenţialului de biogenitate.

Scopul cercetărilor noastre se rezumă la identificarea funcţiilor ecologo-ameliorative de remediere a solului, pe care le îndeplinesc asolamentele furajero-cerealiere şi la elaborarea procedeelor prin intermediul cărora se va realiza gestionarea funcţiilor lor. Studiul s-a axat pe două sisteme de utilizare a terenului: în centura forestieră şi pe terenurile arabile [câte 3 variante: 1 – fond fără îngrăşăminte (control); 2 – fond mineral (îngrăşăminte minerale); 3 – fond organic: gunoi de grajd (bovine)] a două asolamente furajere contraste ale Staţionarului multianual „Biotron", Chişinău. Solul parcelelor experimentate – cernoziom tipic. Conţinutul de humus la adâncimea de 0-60 cm a variant de la 2,2 la 3,4%. Cel de P_2O_5, K_2O şi NO_3 la 0-20 cm a fost, respectiv, de 3,70; 19,10; 1,43 mg/100 g/sol.

Rezultatele obţinute denotă, că proprietăţile solului sunt in dependenţă direct proporţională de conţinutul substanţei organice din sol şi sunt caracterizate de o carenţă înaltă de elemente nutritive, de modificarea dimensiunilor particulelor agronomic valoroase și de diminuarea hidrostabilității solului. Conținutul de carbon și azot abia de acoperă cota parte necesară din humus după diapazonul minim. Fosforul şi potasiul, înregistrînd cantităţi înalte în sol, plantele duc lipsă de forme mobile, accesibile. Fracţiile hidrostabile ale solului în varianta cu îngrăşăminte organice a constituit 23,2 – 27,0 mm faţă de 14,3 şi 11,8 mm a variantei martor şi respectiv – cu fertilizare minerală, ceea ce cedează în fața solului din fondul organic, pe alocuri şi cu 100%. Numai aplicarea îngrăşămintelor organice a determinat o tendinţă de reproducere lărgită a humusului. La finele primei rotaţii, indicatorii conţinutului de humus au constituit 3,2-3,4 %, faţă de valorile iniţiale de 2,8-3,0 % de la începutul experienţei. La rotaţia a doua şi a treia, în variantele cu aplicarea îngrăşămintelor organice a fost înregistrată doar o tendinţă de menţinere a bilanţului de humus. In cazul dat, indicii dinamicii conţinutului de humus s-au poziţionat la nivelul valorilor de 3,0-3,1% faţă de nivelul iniţial de 2,8-3,0%. În agrofondurile fără componenta organică, în dinamică a fost înregistrat un proces de mineralizare în continuare a humusului, iar conţinutul lui a scăzut până la 2,5-2,6% faţă de cel iniţial de 2,8-3,0%. Astfel, asolamentele furajero-cerealiere au adus un aport considerabil la reproducerea fertilităţii solului şi la sfârşitul primei rotaţii (7 ani) introducerea îngrăşămintelor organice a contribuit la stabilizarea conţinutului humusului. După două rotaţii a fost observată o creştere de 0,3%, iar după a treea rotaţie s-a produs reproducerea extinsă a fertilităţii solului şi creşterea conţinutul humusului cu 0,7-0,9%. În aceste condiţii, rentabilitatea în rotaţia culturilor cu participarea ierburilor perene a fost de 10-30% şi de 12-36% – în rotaţia culturilor fără lucernă, dar cu doze duble de îngrăşăminte organice aplicate.

Lucrarea a fost efectuată în cadrul proiectului cu cifrul 20.80009.5107 „Eficientizarea utilizării resurselor de sol şi a diversităţii microbiene prin aplicarea elementelor agriculturii biologice (organice)", realizat cu suportul financiar a ANCD.

RECYCLING BIO-WASTE METHODS IN ORDER TO PROTECT THE ENVIRONMENT

https://doi.org/10.52757/imb21.011

Ceclu Liliana, Nedelcu Ana, Roșca-Sadurschi Liudmila
Cahul State University"B.P.Hasdeu", Faculty of Economics, Engineering and Applied Sciences, the Republic of Moldova
e-mail: ceclu.liliana@gmail.com

As the statistics predicts increasing the world population from the current number of 7.8 billions to 9.8 billions in the year 2050, the amount of bio-waste generated from human activities would also increase, causing more pollution problems to the environment.

Environmental protection by reducing waste is an important global issue. Inadequate waste management leads to climate change and air pollution, which directly affects many ecosystems and species.

According to statistics, up to 50% of municipal solid waste is biodegradable, which plays an important role in recycling and the circular economy. Currently, around the world biodegradable waste in landfills is the main factor for the generation of the greenhouse gas methane and the main environmental threat, which accounted for some 5-6 percent of total greenhouse gas emissions in the world in 2010. Thus, without stringent measures to reduce the bio-waste, methane emissions are expected to increase approximately 25 percent until 2050.

Bio-waste is recyclable and hence must be used smartly in order to trim down the greenhouse emissions that come from landfills. The recycling rate of municipal bio-waste is an important indicator, but it cannot be measured on the basis of reliable data given that part of the bio-waste remains an integral part of mixed municipal waste.

Recycling is the process of organic waste management where they are recycled or converted into useful matter by different recycling methods.

There are different methods of bio-waste recycling, each of which can be used for a particular group of waste to produce some form of useful organic matter. Some of the common methods are described below: animal feed, composting, anaerobic digestion, rapid thermophilic digestion, **immobilized enzyme reaction.**

Recycling, as a part of the Circular Economy indicator set, permits to measure the progress towards a circular economy based on "waste management" concepts. This indicator is important for evaluation of importance of composting/anaerobic digestion as a contribution to circular economy objectives for municipal waste. In this context, the indicator is calculated as the ratio of composted/methanised municipal waste (in mass unit) over the total population (persons).

Several studies and statistics show that, by and large share treatment of bio-waste are realizing by composting or anaerobic digestion methods. The end product from the composting or anaerobic digestionare is used as organic fertilizer or replaces peat in potting soil and plant substrates. The bio-waste recycling may also directly contribute to climate protection if the methane produced during the fermentation is used for energy production.

Key words: *Bio-waste, recycling, environment.*

References:

1. Ferronato, N., Torretta, V. (2019). Waste Mismanagement in Developing Countries: A Review of Global Issues. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16, 1060; doi:10.3390/ijerph16061060.
2. Schücha, A., Morschecka, G., Lemkea, A., Nelles, M. (2016). Bio-Waste Recycling in Germany – Further Challenges. Procedia Environmental Sciences 35, 308 – 318; doi: 10.1016/j.proenv.2016.07.011.

This paper is developed within the project "Human Rights in the Republic of Moldova: financial dimension and consolidation through the efficient public expenditures management" (code 20.80009.0807.35).

CHANGES IN BIOCHEMICAL COMPOSITION OF *PORPHYRIDIUM CRUENTUM* UPON EXPOSURE TO SILVER NANOPARTICLES

https://doi.org/10.52757/imb21.012

Cepoi L., Rudi L., Chiriac T., Valuta A., Miscu V., Rudic V.
Institute of Microbiology and Biotechnology, the Republic of Moldova
e-mail: cepoililiana67@gmail.com

The aim of this research was to assess biochemical changes in red microalga *Porphyridium cruentum* biomass upon contact with silver nanoparticles obtained by biological synthesis, ranging from 12 - 30 nm in size. The essential biochemical parameters of biomass (proteins, lipids, carbohydrates and phycobiliproteins) and its antioxidant activity were determined. In this *experiment, Porphyridium cruentum* biomass collected at the end of the exponential growth phase was used. It was coupled with stable biomass yield.

On average, *Porphyridium cruentum* dry biomass contains 30 - 35% crude protein. In the current study, the control sample of microalgal biomass contained 29% protein. Treatment of algal biomass for 24 hours with silver nanoparticles (AgNPs) resulted in severe protein degradation reaching 12%. There was no change in protein content into biomass after 48 hours of exposure to AgNPs.

The content of phycobiliproteins in algal biomass also decreased drastically. Upon contact with AgNPs, the total content of phycobiliproteins in *Porphyridium* biomass after 24 hours decreased by 46%. Thus, when microalgal biomass came into contact with AgNPs within 24 hours, the content of phycoerythrin decreased by 40%, phycocyanin by 57%, and allophycocyanin by 40%. Moreover, subsequent exposure of biomass for 48 hours led to greater loss of phycobiliproteins, the amount of phycoerythrin was reduced by 92%, phycocyanin - by 97%, and that of allophycocyanin - by 94%.

Microalga *Porphyridium cruentum* can produce rich amounts of polysaccharides with structural function and exopolysaccharides that offer a mechanical protection enabling the cells to develop in a range of environments. The results demonstrated that these compounds degraded rapidly during exposure to nanoparticles. In the first 24 hours of contact, the amount of polysaccharides decreased from 41.6% per dry biomass to 33.6%, and their quantity was 28.3% after 48 hours.

Lipids produced by *Porphyridium cruentum* act as structural components of cell membranes, and maintaining their quantitative stability is a condition to successfully keep its *cellular integrity*. In the first 24 hours of biomass exposure to AgNPs, the amount of lipids decreased sharply - by 57% compared to the control sample. Under conditions of prolonged exposure to silver nanoparticles, the lipid content in algal biomass decreased to 65% compared to control sample.

The values of ABTS assay showed a significant decrease in antioxidant activity of the aqueous extract obtained from *Porphyridium* biomass compared to the ethanol extract. In the first 24 hours of contact with AgNPs, the antioxidant activity of water extract decreased by 66%, and in the ethanol extract - by 52%. After 48 hours of algal biomass exposure to AgNPs, the estimation of antioxidant activity of both types of extracts in ABTS assay resulted in a slower decrease compared to the first 24 hours.

Therefore, biochemical tests on the main parameters of *Porphyridium cruentum* biomass demonstrated the presence of a toxic effect, which manifested in the first hours of contact of algal biomass with silver nanoparticles obtained by biological synthesis involving an organic coating. One of the causative factors of the toxicity of silver nanoparticles to *Porphyridium cruentum* may be the variation in their size. In this case, such a factor as culture age did not mitigate the toxic effect of the nanoparticles.

The scientific results were obtained within the project 20.80009.5007.05 „Biofunctionalized metal nanoparticles - obtaining using cyanobacteria and microalgae", funded by National Agency for Research and Development (NARD), Republic of Moldova.

THE SPECTRAL SHIFT OF *ARTHROSPIRA PLATENSIS* BIOMASS CULTIVATED IN THE PRESENCE OF SILVER NANOPARTICLES

https://doi.org/10.52757/imb21.013

Cepoi L., Djur S., Elenciuc D., Dumbraveanu V., Codreanu L., Doni V., Tasca V.

Institute of Microbiology and Biotechnology, the Republic of Moldova

e-mail: cepoililiana67@gmail.com

The purpose of research was to elucidate the peculiarities of the process of spontaneous biofunctionalization of photoactive metal nanoparticles by live cells of cyanobacterium *Arthrospira platensis* (spirulina). Here we have investigated the effect of enshrouding polymer - coated silver nanoparticles (NPs) with polyethylene glycol (PEG) with 5 nm diameter. One of the tests confirming the biological functionalization of nanoparticles in spirulina biomass involved the recording of spirulina biomass absorption spectra in the presence of nanoparticles.

The most specific changes were identified in the recording of the absorption spectrum of ethanolic extract from spirulina biomass, obtained in the presence of AgNPs supplemented to the culture medium in concentration of 10.0 µM on the 5th day of cultivation. The nanoparticles added at the end of spirulina cultivation cycle did not induce large changes in biomass content.

In the extract obtained from the control biomass, two wavelength absorption maxima were visible, one peak at 666 nm, specific to chlorophyll *a* and the second maximum registered at 260 nm, specific to protein components (Figure 1A).

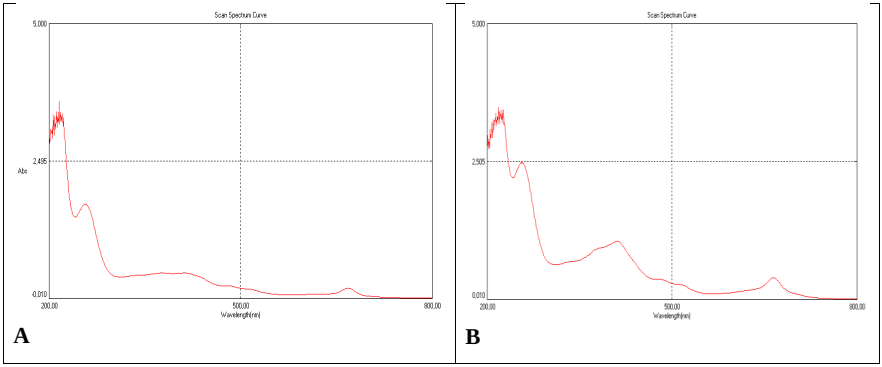


Fig. 1. Absorption spectrum of 50% ethanol extract from spirulina biomass, control sample **(A)** and in the presence of AgNPs supplemented to culture medium in concentration of 10,0 µM on the 5th day of cultivation **(B).**

The absorption spectrum recorded for ethanolic extract obtained from biomass grown with AgNPs identified a third peak at 473 nm, which did not appear on spectrum diagram of the control sample. The spectrum recorded for silver nanoparticles displayed an irregular shape with a peak at 411 nm, which was characteristic of nanoparticle conglomerates.

Spectral shift may be the evidence of biological functionalization of silver polyethylene glycol - coated (Ag - *PEG*) nanoparticles in spirulina biomass.

The scientific results were obtained within the project 20.80009.5007.05 „Biofunctionalized metal nanoparticles - obtaining using cyanobacteria and microalgae", funded by National Agency for Research and Development (NARD), Republic of Moldova.

HELMINTOFAUNA ȘOARECELUI DE PAJIȘTE (*APODEMUS URALENSIS*, PALLAS 1771) DIN DIVERSE BIOTOPURI ALE REPUBLICII MOLDOVA

https://doi.org/10.52757/imb21.014

Chihai Oleg
Institutul de Zoologie, Republica Moldova
Email: olegchihai@yahoo.com

Rozătoarele sunt verigile importante ale lanțului trofic al animalelor răpitoare. Datorită acestui fapt sunt implicate în lanțul zoonotic ca vectori (biologici, mecanici) ai diverșilor agenți patogeni (virusuri, bacterii, paraziți) la om, animale domestice și sălbatice, motiv pentru care aceste animale sunt considerate periculoase. Prin variate conexiuni ecologice, helminții împreună cu gazdele specifice formează sisteme parazitare cu stabilitate bioecologică sporită și reprezintă modele de studiu a diversității și variabilității biosistemelor parazit-gazdă. Scopul lucrării vizează studiul helmintofaunei la *Apodemus uralensis* (Pallas, 1771).

Cercetările au fost realizate în laboratorul de Parazitologie și Helmintologie al Institutului de Zoologie, pe 20 exemplare de *A. uralensis* (5 – ♂, 15 – ♀) capturate din diverse biotopuri ale Republicii Moldova. Investigațiile parazitologice de laborator au fost efectuate prin disecție totală a rozătoarelor (eutanasiate prealabil) cu examinarea microscopică a musculaturii (mușchii maseteri, brațelor, diafragmului) și organelor interne (trahee, pulmoni, cord, limba, esofag, stomac, intestin subțire, intestin gros, ficat, splină, rinichi, vezica urinară) în vederea stabilirii structurii helmintofaunei și determinării indicilor parazitologici (Ромашов и др., 2003; 2011). Identificarea speciilor a fost efectuată după Рыжиков К. (1978; 1979).

Șoarecele de pajiște (*A. uralensis*) de obicei populează diferite stațiuni din agrocenoze (pășuni, perdele forestiere, graminee de toamnă, ierburi perene, culturi prășitoare, culturi multianuale). Evită pădurile, luncile și terenurile umede. Mai frecvent este întâlnit în stațiunile virane (pajiști, alunecări de teren cu arbuști, hârtoape). Poate fi întâlnit la liziera pădurii sau în poiene cu vegetație abundentă. Toamna și iarna populează de obicei, perdele forestiere, vara lanurile de grâu, culturile multianuale (vii, livezi). Indicele prevalenței cu *Paranoplocephala omphalodes* constituie 16.1%, iar intensitatea – 2.0 ex., respectiv *Rodentolepis straminea* – 19.3%, 3.5 ex., *Hydatigera taeniaeformis larvae* – 12.9%, 1.0, *Catenotaenia cricetorum* – 6.5%, 2.5, *Skrjabinotaenia lobata* – 22.3%, 2.4, *Taenia pisiformis larvae* – 10.0%, 1.5, *Capillaria hepatica* – 15.0%, intensitate mică (+), *Syphacia stroma* – 5.0%, 82.0, *Syphacia obvelata* – 20.0%, 83.5, *Heligmosomoides polygyrus* – 5.0%, 9.0, *Strongyloides ratti* – 15.0%, 19.7, 3.0, *Mastophorus muris* – 20.0%, 5.0, 1.0, *Trichocephalus muris* – 15.0%, 2.3. Datele obținute denotă faptul că speciile din clasa Cestoda au o prevalență de 45.0% și o intensitate de 1.9 ex, respectiv cele din clasa Secernentea – 45.0%, 56.0 ex., și cele din clasa Adenophorea – 15.0%, 1.7 ex. Din totalul de 20 de exemplare ale speciei gazdă examinate 70.0% (14 ex.) au fost infestate cu intensitatea medie de 37.6 ex./animal. Taxonomic speciile parazitare constatate la gazdele investigate se încadrează în 3 clase, 10 familii, 12 genuri și 13 specii.

Astfel, cel mai înalt grad de răspândire a fost constat la *R. straminea*, *S. obvelata*, *M. muris*, *C. hepatica*, *S. lobata* (19.3 – 22.3%), nivel de răspândire frecventă a fost identificat la *H. taeniaeformis*, *P. omphalodes*, *S. ratti*, *T. muris* (12.9 – 16.1%), nivel de răspândire relativă *T. pisiformis larvae* (10.0 %), iar la speciile *S. stroma*, *H. polygyrus*, *C. cricetorum* au fost înregistrate o răspândire mai rară (5.0 – 6.5%).

Cercetările au fost efectuate în cadrul Proiectului Program de Stat 20.80009.7007.12: „Diversitatea artropodelor hematofage, a zoo- şi fitohelminţilor, vulnerabilitatea, strategiile de tolerare a factorilor climatici şi elaborarea procedeelor inovative de control integrat al speciilor de interes socio-economic”.

INFLUENȚA LEVAMISOLULUI ASUPRA IMUNITĂȚII CELULARE ȘI UMORALE LA BOVINE

https://doi.org/10.52757/imb21.015

Chihai Oleg
Institutul de Zoologie, Republica Moldova
Email: olegchihai@yahoo.com

Chimioterapia antiparazitară în special cea complexă, agravează procesul patogenetic, prin schimbări imunopatologice, care duc la scăderea rezistenței imunobiologice a organismului gazdă, iar ca rezultat reduce capacitatea de apărare imună la reinfectări [Katijar et all., 1985]. Asemenea rezultate au fost obținute în urma tratamentului antiparazitar (*mebendazol, cambendazol, tiabendazol, tetramizol, ursovermit, loxuran, rintal, panacur, ivomec, nilverm, tividin, acimidofen, hexicol*), care s-a soldat cu diminuarea considerabilă a imunității celulare și celei umorale [Озерецковская, 1978; Мамыкова, 1988, 1989; Даугалиева и др., 1991, 1997, 2000]. În acest context, unii cercetători au constatat că Levamisolul ca imunomodulator restabilește funcțiile limfocitelor T și B, fagocitoza și reglează cooperarea celulară în mecanismele imune [Renoux et al., 1978; Шляхов и др., 1984; Даугалиева и др., 1990, 1991], reglează numărul de limfocite T-supresori, inclusiv producerea anticorpilor [Максимов и др., 1986]. În alte lucrări se relatează despre sporirea tensiunii imune postvaccinale în rezultatul imunizării cu Clostrivac asociat cu Levamisol [Katrinka et al., 1986], la vaccinarea păsărilor împotriva bolii Newkastle [Соколов и др., 1992, 2000], în imunizarea antiantrax la om [Шляхов и др., 1984], contra salmonelozei și colibacilozei la porcine, împotriva salmonelozei, colibacilozei și pasteurelozei la ovine [Cambir și al., 1991].

Scopul acestor cercetări a fost de studia influența Levamisolului asupra imunității celulare și umorale la bovinele (lot **experimental** cu viței 4-6 luni) poliparazitate (*Strongyloides papillosus, Neoascaris vitulorum, Eimeria bovis, E. zuernii, E. smithi* și *E. ellipsoidalis*), tratate antiparazitar complex (*Levamisol, Brovitacoccid, Tilozină*) și imunizate cu vaccin anticolibacilar polivalent (K_{99}, F_{41}, K_{88ab}, Att_{25}), comparativ cu animale poliparazitate (lotul **martor pozitiv**) similar lotului experimental, tratate antiparazitar complex (*Brovitacoccid, Moldbendazol, Tilozină*) și imunizate cu același vaccin, dar fără Levamisol.

Comparând rezultatele obținute constatăm faptul că la bovinele din lotul experimental, față de lotul martor pozitiv, are loc o sporire considerabilă a indicilor imunologici după cum urmează: nivelul mediu de limfocite B cu 14,1% ($P<0,01$) și cel al limfocitelor Th cu 10,9% ($P<0,01$), dar scade semnificativ nivelul mediu de limfocite nule cu 23,3% ($P<0,01$), cel al limfocitelor T cu 21,3% ($P<0,01$) și al celulelor Ts cu 9,5% ($P<0,01$), iar nivelul limfocitelor totale rămâne constant pe întreaga perioadă postvaccinală (14, 21, 28 zile). Aceste modificării ale imunității celulare au indus un răspuns imun poliantigenic, caracterizat prin sporirea titrului mediu de anticorpi specifici la antigenul K_{99} cu 80,0% ($P<0,001$); la F_{41} – 80,0% ($P<0,001$); la K_{88ab} – 79,4% ($P<0,001$) și la Att_{25} cu 76,4% ($P<0,001$).

Astfel, utilizarea Levamisolului în schemele de terapie antiparazitară, majorează tensiunea imună postvaccinală, sporind nivelul de anticorpi specifici în mediu cu 80,0% ($P<0,001$). Aceasta se datorează efectului imunomodulator al Levamisolului, care stimulează activitatea celulelor imunocompetente cu rol de formare a proteinelor imune, sporind considerabil titrul de anticorpi specifici în perioada postvaccinală, iar în cele din urmă se recomandă ca remediu eficient de profilaxie a imunodeficiențelor de ordin parazitar.

CHANGES IN CARBOHYDRATE CONTENT IN SPIRULINA BIOMASS IN THE PRESENCE OF SILVER NANOPARTICLES

https://doi.org/10.52757/imb21.016

Chiriac T., Miscu V., Djur S., Dumbraveanu V.,
Codreanu L., Doni V., Iatco I.
Institute of Microbiology and Biotechnology, the Republic of Moldova
e-mail: chiriac.tv@gmail.com

The impact of silver nanoparticles (AgNPs) on the biosynthetic activity of cyanobacterium *Arthropsira platensis* (spirulina) was studied in dependence of culture age. The presence of 5 nm polyethylene glycol-coated silver nanoparticles in cultivation medium induced changes in biochemical composition of spirulina biomass. Carbohydrate content in spirulina biomass exhibited the most significant changes (Figure 1).

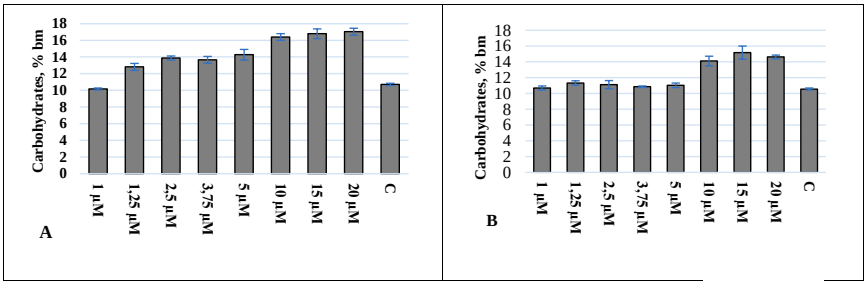


Fig. 1**.** Carbohydrate content in spirulina biomass upon introduction of PEG-AgNPs into culture medium in concentration range of 1.0 - 20.0 µM on the first day of cultivation **(A)** and on the third day of cultivation **(B)**.

The concentration of 1.25 µM AgNPs, applied on the first day of cultivation cycle, enhanced carbohydrate content by 20% (Figure 1A). In concentration range from 2.5 to 20 µM, the carbohydrate content in spirulina biomass increased from 14% to 17%, which was with 29 - 59% more above the value of the control samples. Moreover, higher concentrations of nanoparticles in the medium promoted carbohydrate synthesis. Applying AgNPs on the 3rd day of cultivation, in concentration range from 1.0 to 5.0 µM, no change in carbohydrate content was noticed (Figure 1B). The beginning of the exponential phase was marked by an increase in biosynthetic activity involving significant use of carbon. In the case of AgNPs concentrations from 10 to 20 µM, the carbohydrate content increased by 34 - 44% compared to control samples. Carbohydrate values were within the limits of control samples when using nanoparticle concentrations of 1.0 - 5.0 µM. In the presence of low concentrations of nanoparticles, no significant changes in carbohydrate content was observed.

The culture age was a determinant factor for carbohydrate synthesis in the presence of AgNPs in cultivation medium, the most sensitive being the latent phase. Spirulina at the beginning of the latent phase reacted intensely to silver nanoparticles through the synthesis of carbohydrates. At the beginning of the exponential growth phase, low concentrations of 1.25 - 5.0 µM did not alter the carbohydrate content in biomass. The significant increase in the carbohydrate content in spirulina biomass indicated a reorientation of biosynthetic processes towards the formation of carbon reserves, in order to stabilize the structural components of the cell membrane.

The scientific results were obtained within the project 20.80009.5007.05 „Biofunctionalized metal nanoparticles - obtaining using cyanobacteria and microalgae", funded by National Agency for Research and Development (NARD), Republic of Moldova.

THE ASSESSMENT OF COPPER, IRON, ZINC, AND NICKEL TOLERANCE COMBINED WITH *NOSTOC LINCKIA* BIOMASS PRODUCTION

https://doi.org/10.52757/imb21.017

Codreanu Liviu
Institute of Microbiology and Biotechnology, the Republic of Moldova
e-mail: co_liv@mail.ru

Nowadays, heavy metals constitute some of the most significant environmental contaminants. Metal pollution has harmful effect on biological systems and does not undergo biodegradation. Though physical and chemical treatment strategies to remove metal pollutants exist, such methods are labor intensive. Moreover, chemical treatment methods are expensive and sometimes ineffective, especially when metals are present in solution at very low concentrations. An emerging field of interest is the use of biological agents that are cheap, safer, and possess the natural ability to uptake heavy metals for the remediation of the environment. Many types of biomass show effective binding of toxic heavy metals from industrial and environmental effluents. The microorganism can be involved in heavy metal uptake by employing two processes: intracellular accumulation through its living biomass, and extracellular binding through both living and dead biomass.

Metal toxicity towards organisms is determined by the growth inhibition. *Nostoc linckia* is a filamentous cyanobacterium whose cells are covered by a gelatinous matrix, consisting primarily of polysaccharides, cross-linked with structural proteins. Cell wall polysaccharides play a crucial role in heavy metal binding and accumulation processes. The living biomass cell wall has many functional groups, such as hydroxyl (OH), phosphoryl (PO_3O_2), amino (NH_2), carboxyl (COOH), sulphydryl (SH), etc., which confer negative charge to the cell surface. Since metal ions in water are generally in the cationic form, they are adsorbed onto the cell surface.

In this study, we assessed *Nostoc linckia* tolerance to grow in various metal systems in terms of biomass production. *Nostoc* growth in four copper metal systems (CuFe, CuFeNi, CuFeZn, and CuFeNiZn) was spectrophotometrically determined at the end of cultivation cycle, which lasted 12 days (Fig. 1). Metals were added to the culture medium in the form of the following salts $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, $Ni(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, $ZnCl_2$, in which metal concentration was 2.5 mg/L copper, 1.25 mg/L iron, 0.5 mg/L nickel, and 0.5 mg/L zinc, respectively.

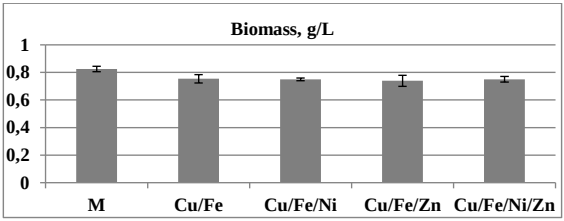


Fig. 1**.** *Nostoc linckia* biomass accumulated during the cultivation in metal systems with copper ions.

The data showed no significant decrease in the amount of biomass in the case of *Nostoc* growth in metal systems with copper ions. In all systems, cyanobacterial biomass produced during cultivation cycle was about 0.75 mg/L, which means a reduction of up to 10% compared to control. Hence, cyanobacterium *Nostoc linckia* showed good growth tolerance in all variants of the experiment.

Thus, *Nostoc linckia* is a suitable matrix for remediation processes that offers a vast competition ground for metal cations. Due to its biological nature, nostoc releases a variety of polysaccharides into the culture medium during cell growth. These structures enhance nostoc tolerance to overcome the toxicity of metals.

BIOCARBURANȚII – OPORTUNITĂȚI DE VALORIFICARE A DEȘEURILOR DIN INDUSTRIA ALIMENTARĂ

https://doi.org/10.52757/imb21.018

Cojocaru Carolina, Covaci Ecaterina (profesor coordonator)
Facultatea Tehnologia Alimentelor, Universitatea Tehnică a Moldovei
e-mail: carolinacojocaru1999@gmail.com

În lucrarea respectivă este prezentată tehnologia de valorificare a deșeurilor Industriei Alimentare, cu conversia în biocarburanți. Cunoaștem, că în ultimele două decenii, Republica Moldova se confruntă tot mai mult cu problemele de procurare a resurselor energetice, fiind dependentă aproape integral de importul de energie. Prețurile de import sunt în permanentă creștere, astfel devenind o povară pentru populație și economia țării. În aceste condiții, este cazul să se adreseze către energia produsă din resursele noastre indigene. Totodată, există și problema gestionării deșeurilor.

Înainte de a ajunge în farfuriile noastre, alimentele sunt procesate tehnologic prin prelucrarea materiilor prime recepționate, elaborarea conform schemei tehnologice, ambalarea, etichetarea, transportarea și distribuirea. Ca rezultat, la fiecare etapă tehnologică se produc multe deșeuri, care constituie sursă de poluare a mediului. Multe din articolele/produsele pe care le aruncăm ar putea fi reutilizate ca materii prime energetice în tehnologiile de producere (digestie anaerobă) a biocarburanților de tip: biogaz, biodiesel, bioetanol, carburanți solizi.

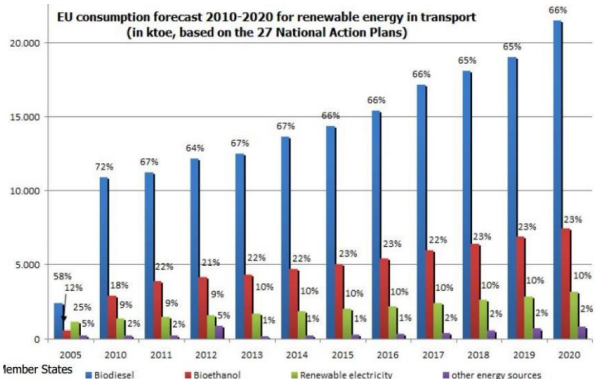


Fig. 1. Dinamica consumului de bioenergie în ultimii 15 ani.

Bioetanolul este definit ca un alcool etilic de proveniență naturală, iar materiile prime utilizate fiind la rândul lor materii prime glucidice (trestia de zahăr, sfecla de zahăr, sorgul, melasa, tescovina dulce, etc.), materii prime amidonoase (porumbul, grâul, cartoful), și materiile prime ligno - celulozice (resturi tehnologice din industria lemnului și alte componente pe bază de plante fibroase), răspândite pe larg in industria alimentară.

Criza mondială de energie din ultimul timp a pus în mișcare comunitatea științifică internațională. Prețul țițeiului este tot mai greu de controlat. De aceea, sunt căutate noi metode de a obține combustibili pe cale naturală. Soluția cea mai sustenabilă o reprezintă înlocuirea combustibililor convenționali cu biocombustibilii obținuți din biomasă și alte resturi industriale.

***Cuvinte cheie*:** biocarburanți, deșeuri alimentare, mediu, poluare, valorificare, resurse.

THE PERSPECTIVE OF USING SOIL MICROORGANISMS FOR DEGRADATION OF NON-RECYCLABLE PLASTIC WASTE

https://doi.org/10.52757/imb21.019

Coșcodan Mihai
Institute of Microbiology and Biotechnology, the Republic of Moldova
mikhail_koshkodan@mail.ru

Microbial communities resistant to various unfavorable environmental conditions can have many unique characteristics. The ability to decompose plastic is increasingly mentioned among such characteristics.

It was found that when plastic is being decomposed, dissolved organic carbon is released, stimulating the activity of heterotrophic microorganisms. Adaptation to new carbon sources can create new microbial characteristics, especially those related to producing active enzymes. Microorganisms that produce enzymes adapted to specific unfavorable environmental conditions can offer numerous opportunities for biotechnological explorations including for elaboration of new technologies for degradation of non-recyclable plastic waste.

Among the prominent microbial agents used for biodegradation there are the representatives of the following genera: *Pseudomonas, Streptomyces, Corynebacterium, Arthrobacter, Micrococcus and Rhodococcus, Subtercola, Adreia, Leifsonia, Cryobacterium and Flavobacterium.*

The abundance of microorganisms in ecosystems reaches up to hundreds of millions and billions of cells in a gram of sediment or soil. Moreover, it is assumed that any surface in polluted environments is colonized by microorganisms. Bacterial colonization of plastic begins almost immediately.

The purpose of this work was to study the role of soil microorganisms and plants with phytoremediation potential in the degradation of non-recyclable plastic. It was found that under the laboratory conditions the microorganisms from soils characterized as rich in biodiversity could use the low-density polyethylene as a source of carbon and/or energy. There also were identified plants that could grow more actively in the presence of polyethylene in soil. The identified microorganisms and plants were recommended for further research aimed at elaboration of new biotechnologies for degradation of non-recyclable plastic waste.

The results were obtained within research project 20.80009.7007.03 supported financially by NARD.

MODERN APPROACHES IN AGRICULTURE FOR ENVIRONMENTAL PROTECTION AND THE ORIGIN OF PRODUCT QUALITY: THE USE OF BIOPESTICIDES

https://doi.org/10.52757/imb21.020

Daraban Mihaita Gabriel[a], Zaharia Carmen[a], Badeanu Marinela[b] and Suteu Daniela[a]

[a] *"Gheorghe Asachi" Technical University of Iasi-Romania, "Cristofor Simionescu" Faculty of Chemical Engineering and Environmental Protection, Iasi, Romania*

[b] *"Ion Ionescu de la Brad" University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Iasi, Faculty of Horticulture, 3 Mihail Sadoveanu Street, Iasi, 700490, Romania*

e-mail: darabangabrielmihaita@yahoo.com

Since ancient times, agriculture has been the essential pillar in the development of the society. Along with industrialization, the approach on the production of agricultural crops changed. With the increase in population, the need for food has also increased. This has led to the implementation of pest control strategies, by applying various treatments, obtained synthetically in the laboratory, but with side effects for both the environment and human health. If modern agriculture has undergone many changes at the current level, it is necessary that the approaches used to control pest to be kept in check with agricultural production on the one hand, and also with the impact of treatments on the environment and population health.

This paper aims to present a new view on pest control by replacing synthetic pesticides with biopesticides from spontaneous flora of Moldova area (Romania). The plants considered to have potential in keeping pests under control are: *Primula veris, Origanum vulgare, Artemisia absinthium and Achillea millefolium*, respectively. Therefore, the paper focuses on using environmentally friendly extraction methods and extractants, and with a promising effect on crop and storage pests (*Leptinotarsa decemlineata* Say and *Acantoscelides obsoletus*) for selected agricultural crops (potatoes and beans). Comparative studies were performed between different extraction methods (ultrasound assisted extraction (UAE), heat assisted extraction (HAE), maceration (M), the combined UAE + M methods) and different extraction agents (hydro-alcoholic solution (50%, 70% ethanol) and ethyl alcohol with 96% concentration, respectively). The extraction was studied in the conditions in which a series of parameters were modified: temperature, process time, S / L ratio and properties of extraction agents. The obtained extracts were analyzed from a quantitative point of view by determining the content of total polyphenols and flavonoids and the efficiency was assessed after the value of the extraction degree. The highest extraction degrees were obtained by the combined method (UAE + M) followed by the UAE method using a concentration of 1:1 ethanol: water. Similar results were obtained in the case of HAE and M methods. In conclusion, the plant extracts obtained by using environmentally friendly extraction methods and spontaneous flora plants, represent an modern and ecological alternative in controlling crop and storage pests of *L. decemlineata* Say and *A. obsoletus* species. Efficiency of plant extracts could be improved by combining with other sustainable agriculture strategies and they are recommended especially for small farmers who embrace the concept of organic crops.

IMPORTANȚA UTILIZĂRII ÎN AVICULTURĂ A ADITIVILOR FURAJERI MEDICINALI PENTRU PROTECȚIA MEDIULUI

https://doi.org/10.52757/imb21.021

Demcenco Boris, Balan Ion, Petcu Igor, Osadci Natalia, Rosca Feodora, Gramovici Ana
Institutul Ştiinţifico-Practic de Biotehnologii în Zootehnie şi Medicină Veterinară, Republica Moldova
e-mail: petcuigorr@gmail.com

Avicultura modernă este o activitate cu caracter industrial, tehnologii automatizate și progrese în domeniul asigurării unor condiții optime de creștere (de mediu) și alimentație a păsărilor. Introducerea aditivilor furajeri medicinali în alimentație, care să contribuie la cerințele fiziologice ale păsărilor și mediului, reprezintă una dintre principalele pârghii medicale în asigurarea sănătății păsărilor și mediului, precum și creșterea eficienței de producere a aviculturii și de favorabilitate a mediului. Pentru combaterea agenților patogeni, prevenirea intoxicațiilor și excluderea poluării mediului există o serie de aditivi furajeri, denumiți generic medicinali curativi, profilactici și detoxifianți. De asemenea, aditivii medicinali pot fi utilizați cu succes pentru combaterea efectelor nocive, produse de interacțiunea microfloră/micotoxine/sistem digestiv/sistem imunitar/producție/siguranță alimentară/ecologie/protecția mediului.

Dea lungul anilor, domeniul aditivilor furajeri medicinali este explorat prin numeroase cercetări, timp în care au fost elaborate și testate o multitudine de produse de la simple substanțe, până la sisteme de aditivi, compuși din multiple substanțe active încorporate. Această nouă clasă de ingrediente furajere medicinale a devenit una din principalele căi de menținere a proprietăților fiziologice ale organismului și asigurare a stării de sănătate a efectivelor, iar implicit, de sporire si eficientizare a performanțelor de valorificare a hranei de către păsări.

Dezvoltarea microorganismelor și fungilor în furaje și culturile de cereale, precum și în locurile de păstrare a lor, provoacă pierderi economice, nutriționale și fizice. Prin urmare, produsele nocive ale activității vitale ale acestora (derivați, metaboliți, micotoxine etc) pot duce la producerea tulburărilor bunăstării și pot fi extrem de toxice pentru păsări, om și mediul ambiant. În legătură cu aceasta, impactul ecologic și economic asupra performanței mediului și aviculturii, ca urmare a posibilelor consecințe, prin evaluarea agenților patogeni și dezvoltării fungilor, poate fi imens. Controlul direcționat al dezvoltării coloniilor de microorganisme patogene și mucegaiurilor a devenit esențial pentru menținerea echilibrului sănătate/alimentație/mediu. La fel, acest control asigură bunăstarea păsărilor, valorile nutriționale ale furajelor, inofensivitatea rațiilor alimentare și mediului ambiant, precum și evitarea intoxicațiilor alimentare, contaminării microbiene și micotoxice ale nutreţurilor și mediului înconjurător.

În particular, o serie de substanțe cu rol medicamentos pot fi introduse în furaje cu scop terapeutic sau de profilaxie a unor devieri în sănătatea păsărilor. Includerea în rație a aditivilor medicinali, ca măsură terapeutică, se realizează în scopul ameliorării stării de sănătate și însănătoșirii efectivului de păsări bolnave. Utilizarea în scop profilactic ai aditivilor furajeri medicinali este prevăzută de o administrare conform unui program profesional, specificat, de obicei, pe o perioadă de lungă durată. În unele cazuri, această perioadă, argumentat se reglementează, chiar pe întreaga perioadă de creștere industrială a păsărilor. Excepție în excluderea acestui aditiv din rația alimentară a păsărilor, constituie perioadele finale de creștere și întreținere, anterioare abatorizării, cu respectarea anumitor condiții specifice impuse. În creșterea păsărilor cel mai frecvent, în scop de profilaxie se folosesc aditivii cu efecte anticoccidiene și histomonostatice. Programul profilactic, pentru evitarea dezvoltării rezistenței și posibilelor reacții adverse, prevede schimbarea periodică a diverselor preparate coccidiostatice și histomonostatice folosite. Aditivii furajeri medicamentoși, concomitent cu proprietățile de bază bactericide și antivirale, posedă și un șir de alte proprietăți, cum sunt antidepresive, sedative, antioxidante și alte însușiri generatoare de efecte benefice asupra caracteristicilor nutreţurilor, asupra organismului păsărilor, asupra producției obținute de la acestea, asupra dejecțiilor rezultate de la acestea și, respectiv, asupra mediului înconjurător, în funcție de principiile bioactive ale conţinutului și varietății substanței active a aditivului.

ESTIMATION OF MALONDIALDEHYDE CONTENT IN *ARTHROSPIRA PLATENSIS* CNMN-CB-11 CULTIVATED IN THE PRESENCE OF INORGANIC SELENIUM (IV) COMPOUNDS

https://doi.org/10.52757/imb21.022

Djur S., Tasca I., Cepoi L., Rudic V.
Institute of Microbiology and Biotechnology, the Republic of Moldova
e-mail: djurlana@gmail.com

Accumulation of lipid peroxidation products in spirulina biomass may reduce its biological value and safety as a raw material for the production of various preparations. Malondialdehyde (MDA) has been recognized as an important lipid peroxidation indicator. Quantification of malondialdehyde was used to assess the level of oxidative stress induced in spirulina culture as a result of changes in cultivation conditions. In this study, some inorganic selenium (IV) compounds were used to cultivate spirulina, in order to obtain biomass with biotransformed content of this bioelement. MDA content was determined as a marker of possible toxicity of the compounds of selenium/selenium accumulated in spirulina culture. It was found that sodium selenite Na_2SeO_3 and ammonium selenite $(NH_4)_2SeO_3$ had practically no effect on the accumulation of free radicals and lipid oxidation (Figure 1).

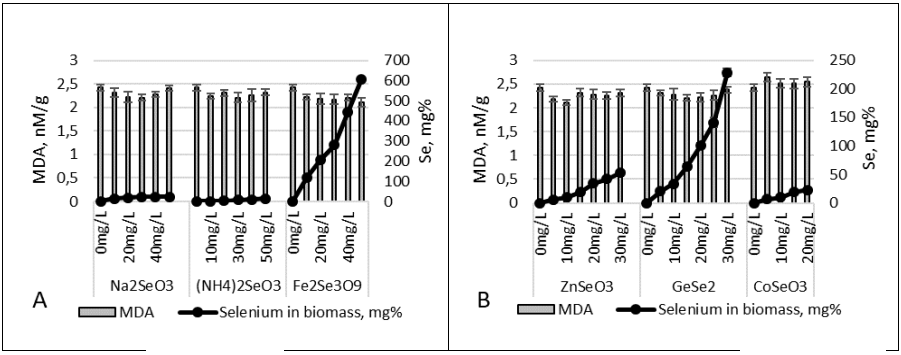


Fig.1. Malondialdehyde content in biomass of *A. platensis* CNMN-CB-11 cultivated in the presence of inorganic selenium (IV) compounds.

The change in MDA content upon the addition of zinc selenite and cobalt selenite compounds was not determined by the supplemented concentration and did not depend on the amount of accumulated selenium (52,64 mg% for $ZnSeO_3$ and 22,71 mg% for $CoSeO_3$). In case of supplementation with $Fe_2Se_3O_9 \cdot 6H_2O$ and $GeSe_2$ in the presence of which the highest amount of selenium was accumulated in spirulina biomass, the MDA level has not changed substantially compared to control.

Thus, the data revealed no significant increase in the MDA level, even at the highest quantities of accumulated selenium - in the case of ferric selenite hexahydrate and germanium selenide. These results suggest that cyanobacterial defense mechanisms against oxidative damage pose a biochemical barrier in response to inorganic selenium (IV) compounds. Spirulina responded by constant lipid synthesis, which made it possible to maintain membrane fluidity and cellular viability. The evidence supporting this claim was also the large amount of biomass produced or at the control level of spirulina culture.

Therefore, the tested selenium compounds were not toxic to *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11 within the limits of applied concentrations, while the vital processes were not interrupted and the balance of its biochemical composition was not disturbed.

HEAVY-METAL TOXICITY IN THE CYANOBACTERIUM *ANABAENA VARIABILIS*

https://doi.org/10.52757/imb21.023

Dudnicenco Tatiana

Moldova State University, Department of Biology and Ecology
e-mail: dudnicenco@yahoo.com

The cyanobacterium *Anabaena variabilis* has a significant role in the natural ecosystems, especially by enriching soil with nitrogen. This cyanobacterium, being present in a sufficient quantity in soil, ensures a more intense growth and a higher productivity of the crop plants. The activity of the cyanobacteria is reduced in cases of pollution of their environment. The purpose of this work was to investigate how presence of heavy metals in the environment affects the activity of the cyanobacterium *A. variabilis*.

The tested cyanobacterium *Anabaena variabilis* (locally isolated) was cultivated in the Allen and Arnon's medium [1] (4 times diluted). The cultures were incubated in an air-conditioned culture room (temperature 24 ± 1^0C) receiving 72 μmol m^{-2} s^{-1} PAR (photosynthetically active radiation) for 12 h daily. The batch culture was dosed with different concentrations of copper and zinc from freshly prepared stocks of $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ and $ZnCl_2$, to obtain the desired metal concentrations (1.0, 2.0 and 4.0 μM for Cu, and 2.5, 5.0 and 10.0 μM for Zn) in the culture medium. At the final day of the experiment (after 15 days of the metal treatment), 15 ml of algal culture suspension were withdrawn from the control as well as from the metal-treated batch and semi-continuous cultures. Different parameters, such as cell number, protein, pigments, pH, phosphate and metal content in the culture, were analyzed by the standard methods.

The experiments resulted in Cu- and Zn-induced reductions of the final yield, protein and chlorophyll *a* of *A. variabilis* in the batch and semi-continuous cultures. The inhibition of protein content and chlorophyll *a* contents of *A. variabilis* was significantly ($P < 0.05$) greater at all the tested concentrations of Cu and Zn in the semi-continuous culture as compared to the batch culture. The control cultures of *A. variabilis* had 183.00 (± 6.40), 169.30 (± 1.20) fg $cell^{-1}$ protein and 77.00 (± 2.26), 57.00 (± 2.90) fg $cell^{-1}$ chl *a* content in the batch and the semi-continuous system, respectively.

The amount of Cu and Zn accumulated in the cells of the test organism was greater in the semi-continuous culture in comparison to the batch culture. The amount Cu and Zn was approximately 2-3 times higher in the semi-continuously grown cells as compared to the batch culture. The percentage of phosphate depletion from their initial concentration (2 mM) was 60, 50, 25 and 62, 50 and 25% from the culture medium dosed with 1, 2 and 4 μM of Cu and 2.5, 5 and 10 μM of Zn, respectively. The control cultures of the batch and semi-continuous systems showed a 70 and 25% depletion of phosphate, respectively.

The carotenoids of the batch grown *A. variabilis* were significantly ($P < 0.05$) higher than in the semi-continuous culture at each tested concentration of metals as well as in the control. The differential toxicity of metals to *A. variabilis* in the batch and semi-continuous cultures might also be due to the different cellular status of the carotenoids. The previous literature documented the role of carotenoids in protecting cells from stress-induced oxidative damage [2]. The mechanism of the metal toxicity amelioration by carotenoids warrants further research.

The present study suggests that the batch culture experiments may underestimate the toxicity of metals to algae, and therefore may be misleading. It recommends the semi-continuous culture (as a better approximation to the natural systems) for predicting the impacts of, and for better understanding of algal responses to metals in the metal-contaminated environments.

Bibliography:

1. Allen M. B. and Arnon D. I. Studies on nitrogen-fixing blue-green algae. I. Growth and nitrogen fixation by Anabaena cylindrica Linn. In: Plant Physiology, v. 30, 1955, p. 366-372.
2. Mallik N. and Mohn F. H. Reactive oxygen species: response of algal cells. In: Journal of Plant Physiology, t. 157, 2000, p. 183-193.

THE INFLUENCE OF SOME MINERAL FERTILIZERS ON THE ACTIVITY OF THE CYANOBACTERIA *NOSTOC LINCKIA* AND *NOSTOC PUNCTIFORME*

https://doi.org/10.52757/imb21.024

Dudnicenco Tatiana

Moldova State University, Department of Biology and Ecology
e-mail: dudnicenco@yahoo.com

Cyanobacteria are numbered among the organisms that have a clear role in soil fertility. The aim of this research was to assess the influence of mineral fertilizers, frequently used for the soils in the Republic of Moldova, on the activity of the cyanobacteria species *Nostoc linckia* (Roth.) Born. and Flah. and *Nostoc punctiforme* (Kützing) Hariot. The objectives of the investigations were: to study the morphological and physiological-biochemical particularities of these strains of *Nostoc*; to identify the factors that regulate their nitrogen-fixing activity, increasing their productivity, enriching soil with organic substances and nitrogen; to study the possibility of using these species as biological indicators; to determine the rates of the fertilizers that can be used without endangering the activity of these soil cyanobacteria.

The mentioned species, due to their biochemical composition, morphological and physiological particularities are potentially efficient biological indicators for the agriculture, and they also can enrich soil with fixed atmospheric nitrogen, and can be used for various purposes of the modern biotechnology.

0.2g/l of KCl in the nutrient medium was found to be optimal for the growth of both studied *Nostoc* species. 0.5g/l of $Ca(H_2PO_4)_2$ in the nutrient medium was optimal for the growth of both species. 1.1 g/l of the nitrofosca – a complex mineral fertilizer containing N, P, K – was optimal for the growth of the cyanobacterium *Nostoc linckia*, and 1.3 g/l was optimal for the growth of the cyanobacterium *Nostoc punctiforme*. The tested cyanobacteria were resistant to high concentrations of the nitrogen mineral fertilizers up to 2.4g/l of NH_4NO_3, 3.5g/l of $NaNO_3$, and 3.5g/l $Ca(NO_3)_2$, at these and higher concentrations the cyanobacteria slowed down their growth and even died. A relatively higher sensitivity was observed in the cases of P and K fertilizers.

Thus, the absence or small number of the *Nostoc* species in the soils they usually populate, may indicate an overuse of mineral fertilizers (in such cases this may be used for biological assessment of soil quality). On the other hand, insufficient fertilization or insufficient presence in soil of the biogenic elements such as N, P and K can also cause, as in the case of their surplus, decreases in the number of cyanobacteria or their absence.

In conclusion, the studied species, being sensitive to variations in the concentration of N (high concentrations), P and K salts can be used as biological indicators for assessing soil fertility and determining need for soil fertilization. To stimulate the activity of the nitrogen-fixing soil cyanophytes, it is necessary to control the salt concentrations in soil. At the unfavorably high concentrations of the fertilizer in the environment the tested cyanobacteria increased the cell size and became more rounded, thus reducing their contact surface (which is their adaptation mechanisms under unfavorable conditions). The ability to survive at minimum nitrogen concentrations was probably due to the fact that these organisms are nitrogen-fixing, and could provide themselves with this nutrient. At the same time the low concentrations of the nitrogen salts played a nutritional supplement role. Increased concentrations of nitrogen salts were toxic for the cyanobacteria, inhibiting their growth and even causing their death.

POTENTIAL OF MICROORGANISMS IN THE REMEDIATION OF MULTIMETAL CONTAMINATED WASTEWATERS

https://doi.org/10.52757/imb21.025

Filote Cătălina [1,2], Roşca Mihaela [1,2], Hlihor[1]Raluca Maria, Simion Isabela Maria[1]

[1] *"Ion Ionescu de la Brad" University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Iasi, Faculty of Horticulture, Department of Horticultural Technologies, 3 Mihail Sadoveanu Alley, 700490 Iasi, Romania*

[2] *"Gheorghe Asachi" Technical University of Iasi, "Cristofor Simionescu" Faculty of Chemical Engineering and Environmental Protection, Department of Environmental Engineering and Management, 73 Prof. Dr. Docent D. Mangeron Str., 700050 Iasi, Romania*

e-mail: catalina.filote@uaiasi.ro, raluca.hlihor@uaiasi.ro

One of the most critical issues in terms of environmental pollution is the contamination with heavy metals. Some metals are beneficial for the development of organisms in small amounts, but some are very toxic and can generate a high negative impact in the natural world. The metals that are most commonly detected in aquatic ecosystems and affect the water bodies are mercury, lead, cadmium and nickel. Microorganisms have a wide range of applications that they can be used for owing to their high adaptability, diverse chemical composition and possibilities of transformation through genetic modification. The capacity of microorganisms to remove heavy metals has been thoroughly explored in lab-scale research with optimization tests performed mostly using mono-metallic solutions. The obtained data shows very good capacity of microorganisms in the removal of single metal ions. However, real effluents are usually composed of more types of metals. Depending on the industry, the composition of the wastewater can be relatively complex. In order to upscale the application of microbial organisms used for heavy metals removal, a comprehensive research analyzing the main parameters and their influence is required as well. Some work has been carried out in this sense, but mostly again, at laboratory scale, using artificial solutions or in some cases also real effluents. The mechanisms involved in the uptake of multiple metal ions from aqueous solutions by microorganisms require further understanding. This current investigation aims to synthesize the available research data regarding the treatment of multimetallic solutions using microbial and to identify the main aspects that require attention in an expanded approach of scientific studies.

Acknowledgments: This work was supported by a grant of the Romanian Ministry of Education and Research, CCCDI - UEFISCDI, project number PN-III-P2-2.1-PED-2019-2430, within PNCDI III.

SĂNĂTATEA SOLULUI – O NOUĂ PARADIGMĂ PENTRU DEZVOLTAREA AGRICULTURII DURABILE

https://doi.org/10.52757/imb21.026

Frunze Nina
Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, Republica Moldova
e-mail: ninafrunze@mail.ru

Solul, ca, orice sistem complex, are o multitudine de proprietăți. Cercetătorii s-au concentrat asupra studierii calității solului pe baza proprietăților sale chimice și fizice. Cu toate acestea a devenit clar că, în descrierea solului este necesar să se țină seama și de componenta sa biologică. Termenii "sănătatea " și "calitatea" solului sunt tot mai frecvent utilizați în lumea științifică. Autorii propun definiții care, desi, se pot deosebi în detalii, de fapt, sunt destul de apropiate [Doran și Jones (1996), Karlen et al. (1997)]. Astfel, calitatea solului se califică ca fiind „…capacitatea solului de a funcționa în ecosistem și ca parte a terenurilor valorificate, de a sprijini fertilitatea și calitatea mediului, de a contribui la sănătatea plantelor și animalelor…". Solul sănătos este definit ca sol stabil, rezistent la stres, cu biodiversitate înaltă și care contribuie la circuitul de substanțe, descompunerea materiei organice, conservarea structurii solului, suprimarea biologică a dăunătorilor, etc [Elliott, Lynch (1994)]. Prin urmare, termenul „calitatea solului" este asociat cu adecvarea sa pentru scopuri specifice și „sănătatea" solului - cu performanța funcțiilor sale ecosistemice, care are un sens mai larg decât noțiunea „calitatea". Pentru prima dată, termenul „sănătatea solului" a fost utilizat de Kovda (1990) și Doran cu colab. (1996).

Scopul studiilor noastre a fost stabilirea sănătății cernoziomului tipic din RM prin compararea valorilor medii ale conținutului carbonului microbian activ și numărului de microorganisme supresoare din solul arat cu cele din solul biocenozei naturale (etalon). Investigaţiile s-au petrecut în anii precedenți in solul centurii forestiere şi a 3 variante ale asolamentului cu lucernă din Staționarul „Biotron", Chișinău. S-a stabilit, că valorile carbonului activ (martor – 189, fond mineral – 245 și fond organic – 414 µg C/g) din solul arat cedează considerabil celor din solul neprelucrat, constituind doar 34,69, 44,95 și 75,96%, respectiv. Doar solul în care s-au administrat fertilizanți organici a manifestat tendința de atingere a valorilor indicilor carbonului activ ai solului biocenozei naturale. Prin studiul comparativ al diversității micromicetelor s-a constatat că, cernoziomul studiat conține mai mulţi reprezentanţi fitopatogeni ai genului *Fusarium* (17,73%) decât supresori, reprezentanți ai genului *Trichoderma* (9,17%). Ultimul, în fondul mineral n-a fost depistat, în ciuda apariției destul de frecvente a ciupercilor fitopatogene (15,89%). În variantele cu îngrășăminte organice, prezența ambilor reprezentanți a fost mai echilibrată deși, în acest caz, ciupercile supresoare au fost mai puține: 3,95 и 4,08%, în raport cu prezența a 6,70-6,91% ciuperci ai genului *Fusarium.* Aceasta denotă faptul, că sănătatea solului este afectată în urma presiunii antropice și că există o necesitate stringentă a unui sistem de indicatori de apreciere a sănătății solului, adaptați la condițiile pedo-climaterice ale republicii.

Rezultatele cercetărilor ar putea reprezinta o parte importantă a sistemului de cartografiere, evaluare (pentru stabilirea prețului, calității și sănătății solului) și înstrăinarea diferitor categorii de terenuri, care pot fi utilizate de serviciile agrochimice și de mediu ale RM, pentru a evalua daunele utilizării iraționale ale resurselor de sol.

Lucrarea a fost efectuată în cadrul proiectului cu cifrul 20.80009.5107. „Eficientizarea utilizării resurselor de sol şi a diversităţii microbiene prin aplicarea elementelor agriculturii biologice (organice)", realizat cu suportul financiar al ANCD.

METAGENOMICA SOLULUI CA TEHNOLOGIE DE CUNOAȘTERE A PROCARIOTELOR NECULTIVABILE

https://doi.org/10.52757/imb21.027

Frunze Nina
Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Republica Moldova
e-mail: ninafrunze@mail.ru

Se știe că eterogenitatea extremă a solului ca habitat, variabilitatea ridicată a factorilor ambianți și diversitatea combinațiilor lor fac ca mediul solului să fie cel mai mare rezervor de diversitate microbiană pe pământ. Doar 0.1-10% din acest complex microbian imens poate fi crescut pe mediile nutritive artificiale în condiții de laborator și, prin urmare, pentru majoritatea microorganismelor funcțiile lor biogeochimice și de mediu nu sunt disponibile pentru cercetare prin metode microbiologice clasice. Prioritare în detectarea și studierea majorității microorganismelor non-cultivabile din sol sunt metodele biologice moleculare. Cea mai populară în studiul metagenomic este analiza genei 16S ARN. În ciuda faptului că geografia lucrărilor consacrate metagenomului solului cuprinde aproape toate regiunile Pământului - în literatura științifică, date privind analiza metagenomică a solurilor RM, lipsesc.

Scopul studiului nostru a fost analiza metagenomică a microbiomului din cernoziomul tipic cu sarcină antropică diferită prin determinarea diversității filogenetice generale şi identificarea taxonilor dominanți. Lucrările au avut loc în anul 2020 prin aplicărea tehnologiei de secvențiere de înaltă performanță, adică de "citire" a secvențelor nucleotidelor în ADN. Analizele s-au efectuat în secţia Tehnologii Genomice ale Centrului ştiinţific „Tehnologii genomice, proteomică şi biologie celulară” al FSBSI ARRIAM, Sankt Petersburg, Rusia. Investigaţiile s-au axat pe doua sisteme de utilizare a terenului: in centura forestieră şi pe terenurile arabile a două asolamente furajere contraste ale Staționarului multianual „Biotron”, Chișinău [câte 3 variante: 1 – fond fără îngrășăminte (control); 2 – fond mineral (îngrășăminte minerale); 3 – fond organic: gunoi de grajd (bovine)]. În solul de referință, conținutul mediu de humus din stratul 0-60 cm a variat de la 2,2 la 3,4%. Cel de P_2O_5, K_2O și NO_3 a fost, respectiv, de 3,70; 19,10 și 1,43 mg/100 g/sol în stratul de 0-20 cm.

Rezultatele preliminare au relevat, că reprezentanții comunităţilor de procariote din sol aderă la 13 filumuri, ce aparțin domenului **Bacteria:** [Acidobacteriota (1,3%), Actinobacteriota (20,7%), Bacteroidota (4,2%), Cyanobacteria (1,6%), Firmicutes (14,2%), Fusobacteriota (0,3%), Gemmatimonadota (0,5%), Myxococcota (0,4%), Nitrospirota (0,2%), Planctomycecota (0,5%), Proteobacteria (29,3%), Verrucomicrobiota (0,9%)] și domenului **Archaea** [Crenarchaeota (5,1%)]. Numarul taxonilor neidentificaţi din domenul Bacteria este de circa 0,8%, iar a altor microorganisme neidentificate este relativ înalt (circa 19,9%). Filumurile dominante sunt: Proteobacteria (29,3%), Actinobacteriota (20,7%) și Firmicutes (14,2%). Diversitatea filogenetică generală (indicele Șenon) a oscilat între 4,6 – 7,8 cu valorile maximale în solul biocenozei naturale și în fondurile organice din ambele asolamente furajere. Caracteristicile metagenomice generale identificate, de rând cu cele ale structurii comunităților de procariote din sol, asociate cu condițiile climaterice, pot fi utilizate ca bioindicatori ai solului, la evaluarea stabilității ecosistemelor atunci, când solul este expus unor factori naturali și antropici, dar și în scopul elaborării măsurilor de remediere a lui, în caz de necesitate.

Lucrarea a fost efectuată în cadrul proiectului cu cifrul 20.80009.5107. „Eficientizarea utilizării resurselor de sol şi a diversităţii microbiene prin aplicarea elementelor agriculturii biologice (organice)”, realizat cu suportul financiar al ANCD.

PROCEDEU INOVATIV DE MATURARE A PREPARATELOR DIN CARNE

https://doi.org/10.52757/imb21.028

Golubi Roman, Bogdan Nina
Institutul Ştiinţifico-Practic de Horticultură şi Tehnologii Alimentare, Republica Moldova
e-mail: romangolubi985@gmail.com
nina.bogdan.91@gmail.com

La întreprinderile de procesare a cărnii şi unităţile de alimentaţie publică se folosesc procedee tradiţionale de maturare a preparatelor din carne şi anume: menţinerea în oţet, amestec de oţet şi suc de lămâie, vin, soluţii de acid lactic. Preparatele din carne de înaltă calitate se obţin la maturare cu aplicarea culturilor lactice selecţionate, însă acest procedeu este costisitor şi necesită echipament specific. Totodată, specialiştii din domeniul nutriţiei atenţionează că consumul alimentelor cu concentraţie sporită a acizilor acetic şi citric poate provoca alergii, arsuri gastrice şi dereglări a funcţiilor hepatice, iar pentru unele specialităţi din carne diminuează indicii senzoriali caracteristici şi afectează în mod nedorit proprietăţile de consum.

Drept alternativă, a fost elaborat un procedeu ce constă în maturarea preparatelor din carne cu acidifianţi din mere şi struguri, care ameliorează indicii organoleptici, fizico-chimici şi se caracterizează prin valoare nutritivă înaltă cu garantarea siguranţei alimentare.

Preparatele din carne de porc (fileu pentru steak), imersate în acidifianţi naturali din mere şi/sau struguri au fost menţinute la temperaturi joase pe durata de până la 12 ore. Apoi acestea au fost supuse tratării termice (prăjire). Preparatele gătite au fost testate pentru aprecierea indicilor de calitate (Rezultatele caracteristicilor fizico-chimice şi microbiologice sunt prezentate în tab. 1 şi 2).

Steakul pregătit conform procedeului elaborat, posedă culoare aurie, aromă caracteristică pentru carne de porc prăjită cu nuanţe plăcute de măr verde şi respectiv struguri, gust armonios şi consistenţă fină. S-a constatat o ameliorare vădită a calităţilor gustative.

Tabelul 1. Indicii fizico-chimici ai preparatelor din carne gătite

Produsul	Apă	Proteine	Grăsime	Sare	pH
Steak de porc	53,7%	17,3%	27,5%	1,5%	6,1

Tabelul 2.Indicii microbiologici ai preparatelor din carne

Produsul	Total germeni, UFC/g	Bacterii coliforme, UFC/g	*Salmonella*, UFC/25g	*Staphylococcus aureus*, UFC/g	Bacterii sulfito-reducătoare, UFC/g
Steak de porc	$1,5\times10^2$	absent	absent	absent	absent

Valorile indicilor de calitate fizico-chimici şi microbiologici ai mostrelor analizate corespund cerinţelor stipulate în documentele normative în vigoare pentru produsele din carne.

Rezultatele cercetărilor demonstrează că maturarea preparatelor din carne în acidifianţi naturali din mere şi struguri, oferă ramurii de procesare a cărnii următoarele avantaje:

1) Conţinutul de acizi organici ai acidifianţilor formează un mediu pH=2,3...2,8 care pe durata a 12 ore contribuie la scăderea mediului pH sub punctul izoelectric a proteinelor cărnii (5,0...5,7). Demarează procesul biochimic de desfăcere a legăturilor polipeptidice ale complexului actino-miozinic şi se creează condiţii favorabile pentru hidratare. În consecinţă, preparatul din carne obţine o consistenţă fină şi poate fi tratat termic la temperaturi moderate.

2) Proteoliza parţială contribuie la eliberarea fracţiilor proteice care ameliorează semnificativ gustul şi aroma în timpul operaţiei tehnologice de prăjire a cărnii.

3) Menţinerea preparatelor de carne pe durata a 12 ore la temperaturi joase în soluţii cu acidifianţi inhibă dezvoltarea germenilor patogeni, asigurînd stabilitatea microbiologică a acestora.

BIOGAS AS A SOURCE OF RENEWABLE ENERGY OBTAINED FROM THE RECOVERY OF FOOD INDUSTRY WASTE

https://doi.org/10.52757/imb21.029

Guțu Crina and Covaci Ecaterina (coordinating professor)
Department of Oenology and Chemistry, Technical University of Moldova,
168, Stefan cel Mare str., Chisinau MD-2004, the Republic of Moldova
e-mail: crina.gutu@an.utm.md

One of the main problems of mankind in the present stage is the limited level of energy resources, represented by the resources energy fossils, respectively: gas, coal, and oil. Next to this energy problem, there was another problem related to gases with affect greenhouse gases, which cause major climate change. With increasing and diversified consumption worldwide, the production of waste does not stop, it increases in quantity and quality, thus causing enormous risks to the environment and consequently on the health of the population.

This article investigates the topic of finding a solution to protect and remedy the ecological problems caused by the food industry, namely the potential of biogas. Biogas is a combustible gas, which consists of methane, carbon dioxide, and small amounts of other gases and trace elements, which arise through the processes of fermentation or gasification of various organic substances. Biogas is considered an alternative fuel or renewable energy source so that the energy obtained from the biomass chain → biogas → electricity or heat (figure 1), is renewable energy because the carbon dioxide released into the atmosphere when burning biogas comes from carbon dioxide assimilated by plants in the vegetation period, respectively from the fodder consumed by the animals. According to the Kyoto Protocol, this carbon dioxide is recirculated in a closed circuit, unlike that from the burning of fossil fuels (natural gas, coal, crude oil) which burns carbon dioxide that was assimilated in prehistoric times, being considered a contribution to the current atmosphere.

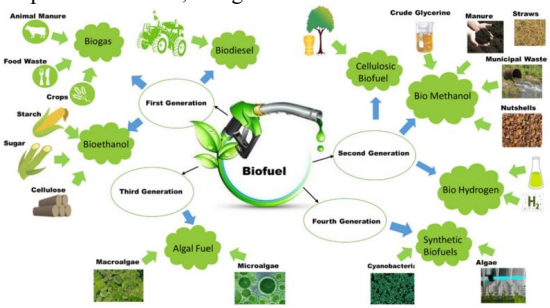


Fig. 1. The multitude of ways to obtain biofuels.

Biogas produced by the anaerobic digestion (AD) process is cheap and offers the possibility of treatment and recycling of a variety of residues and agricultural by-products, various biowaste, organic wastewater from industry, sewage, and sewage sludge, in a sustainable and "friendly" way with the environment. At the same time, biogas brings a large number of socio-economic benefits, both for farmers directly involved in its production and for society as a whole. For all these reasons, biogas resulting from AD processes is one of the main priorities of the European strategy on biofuels and renewable energy.

Key words: biogas, industry, biofuels, renewable energy, ecology.

Acknowledgements. The research was funded by State Project 20.80009.500727 "Physico-chemical mechanisms of redox processes with electron transfer involved in vital, technological and environmental systems", running at Technical University of Moldova and conducted at Department of Oenology and Chemistry, Micro-winemaking Center.

CHALLENGES IN IDENTIFYING MICROBIAL BIOMASS SUITABLE FOR BIOSORPTION AND BIOACCUMULATION PROCESSES

https://doi.org/10.52757/imb21.030

Hlihor Raluca Maria[1], Roșca Mihaela[1,2], Simion Isabela-Maria[1], Filote Cătălina[1,2], Cozma Petronela[1,2], Apostol Maria[1], Favier Lidia[3], Gavrilescu Maria[2,4]

[1]"Ion Ionescu de la Brad" University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Iasi, Faculty of Horticulture, Department of Horticultural Technologies;

[2]"Gheorghe Asachi" Technical University of Iasi, "Cristofor Simionescu" Faculty of Chemical Engineering and Environmental Protection, Department of Environmental Engineering and Management, 73 Prof. Dimitrie Mangeron Blvd., 700050 Iasi, Romania

[3]Univ Rennes, Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes, CNRS, ISCR–UMR6226, F-35000 Rennes, France

[4]Academy of Romanian Scientists, 3 Ilfov Street, 050094 Bucharest, Romania

e-mail: raluca.hlihor@uaiasi.ro

The presence of heavy metals in the environment represents a serious environmental and health problem. In the assessment of environmental pollution, as well as in pollution prevention and cleaning of the polluted environment, natural and controlled processes such as biosorption and bioaccumulation started to be successfully used. These environmentally friendly processes are becoming a new alternative for the removal of heavy metals from aqueous solutions, since they proved to involve lower operating costs and high efficiency in removing toxic metals from the environmental compartments. The natural ability of dead and living biomass is successfully used to sequester heavy metals. Although biosorption is a promising method for environmental bioremediation, its mechanism is not well understood, because it highly depends on the biomass characteristics, heavy metal properties and operating conditions.

All types of biomass have the ability to bind heavy metals, in different extent though, depending on morphology and physiology of an organism. The efficiency of this kind of processes can be greatly improved if are performed in controlled conditions. In order to design a complete technique regarding the biosorption and bioaccumulation processes and to make a practical use of it, it would be indispensable to understand their mechanism, rules that govern them, how to model their kinetics and equilibrium.

This paper reviews some of the most important issues regarding biosorption and bioaccumulation processes, pointing out on their basic assumptions and goals, future prospects and practical applications. In our researches, for example, we found that immobilization of *Arthrobacter visosus* in the form of a biofilm on a polymeric matrix offers a greater potential for large scale application of biosorption in fluidized systems. The uptake of total Cr, Cd(II) and Pb(II) bound to the biofilm at a flow rate of 10 mL/ min and working with 25 mg/L metal solution was, at the end of contact time 20.37 mg/g, 46.53 mg/g and respectively 6.21 mg/g. Considering these aspects, the biosorption abilities of bacterial and fungal biomass towards metal ions are emphasized. Moreover, the ability of other kinds of biosorbents (agricultural wastes and algae) is discussed in terms of uptake capacities and removal efficiencies considering our own results and the scientific data found in literature.

Keywords: biosorbents and bioaccumulators, environmental bioremediation, heavy metals.

Acknowledgements This work was supported by a grant of the Romanian Ministry of Education and Innovation, CNCS - UEFISCDI, project number PN-III-P2-2.1-PED-2019-2430, Contract no. 439/2020, within PNCDI III.

PERSPECTIVES OF USING MICROBIOLOGICAL TECHNOLOGIES FOR ELIMINATION OF FOUL ODOR FROM BIOLOGICAL TREATMENT FACILITIES

https://doi.org/10.52757/imb21.031

Hlushen Alena, Chyrykava Marharyta, Hubchyk Kiryl
Institute of Microbiology, National Academy of Sciences, Belarus
e-mail: gem@mbio.bas-net.by

Elimination of unpleasant odors is one of the great challenges the experts dealing with decontamination technologies face. The largest nuisance is caused by smells emanating from the sludge bed (sludge storage areas) designed for natural dewatering of sediments and of surplus sludge from biological treatments facilities. Currently the activated sludge basins are overloaded, and their designed capacity is exceeded by 40 times. Hundreds of thousands of tons of sediment are accumulated on the territories of urban biological treatment facilities. The greatest problem is that the sludge beds are not cleaned for years. As a result, they are getting filled to the top with sludge mixture, rotting and emitting putrid scent. One of the promising trends in solving this problem is the use of biological sorption of stinking odors with subsequent microbial neutralization of the absorbed substances.

In this work the screening of microorganisms able to remove effectively foul smells at municipal biological detoxification stations was conducted. Both sewage water and wastewater residues from biological treatment processes were used during the screening. The search of the microorganisms that can remove the unpleasant odors from treatment facilities was carried out based on the collection of microbial xenobiotic degraders (Laboratory of Environmental Biotechnologies, Institute of Microbiology, National Academy of Sciences, Belarus).

At the initial stage, the ability of the collection cultures to utilize the organic compounds typical for municipal sewage was tested. Wastewaters from urban biological decontamination networks were used as the model samples for efficiency evaluations. The most active cultures were further checked for deodorizing capacity in sewage and in sediments produced during biological treatment. The screening identified 8 highly active strains able to remove the foul smells of sewage water: *Rhodococcus erythropolis* 87F, *Rhodococcus erythropolis* 14D, *Rhodococcus opacus* 31D, *Rhodococcus ruber* H2004, *Rhodococcus ruber* 1B, *Rhodococcus ruber* R1, *Bacillus* sp. Lg1 and *Bacillus* sp. Lg2. It was found that in 2-3 days after the application of these strains, the malodor vanished completely while decontamination efficiency expressed in chemical oxygen demand (COD) values exceeded by 15-40 % the control parameters. The investigation of the ability of the isolated strains to eliminate the malodor from sewage sediments was done using the samples taken at the sludge collection ponds of biological treatment units. The investigations revealed that the rate of sewage sediment deodorization considerably slower than that for the sewage water. Depending on sediment composition, moisture content and the parameters of degradation process, the intensity of the malodor started declining only in 7-21 days. This may be explained by the higher concentrations of organic compounds in the sediments and the less favorable conditions for their microbial degradation. The critical factors also were the age and humidity of the activated sludge. Strains *Rhodococcus erythropolis* 87F, *Rhodococcus opacus* 31D, *Rhodococcus ruber* R1, *Bacillus* sp. Lg1 и *Bacillus* sp. Lg2 were the most efficient in elimination of the foul odor from the sewage sediments. The use of a consortium of these microorganisms made it possible to increase the efficiency of the unpleasant odor removal from sewage sludge by 20-40%.

The obtained consortium of microbial degraders was suggested for elaboration of novel biotechnologies aimed at removing the unpleasant odors from sludge treatment facilities.

ASPECTE APLICATIVE DE VALORIFICARE A PRODUSELOR SECUNDARE VINICOLE

https://doi.org/10.52757/imb21.032

Ipiroti Nicoleta, Covaci Ecaterina (profesor coordonator)
Facultatea Tehnologia Alimentelor, Universitatea Tehnică a Moldovei
e-mail: nikoletaipiroti@gmail.com

Vinul reprezintă o băutură alcoolică obținută printr-o fermentare parțială sau completă a mustului din struguri proaspeți. În afara produselor de bază, ca mustul și vinul, de la prelucrarea strugurilor și condiționarea vinurilor, rezultă și însemnate cantități de alte produse, grupate sub numele generic de produse secundare sau subproduse. Elaborarea vinului este un proces tehnologic foarte complex dar și costisitor financiar, deoarece numai 70 % din materia folosită este pentru producerea vinului, iar restul de până la 30 % sunt considerate deșeuri vinicole.

Vinificația generează reziduuri solide (ciorchini, tescovină de struguri dulce sau fermentată) și lichide (sediment de drojdie de vin, piatră de vin, etc.), denumite „produse vinicole secundare", care, în conformitate cu Regulamentele europene actuale, trebuie să fie eliminate în conformitate cu regulamentele de protecție a mediului înconjurător.

Tehnologiile de valorificare a subproduselor vinicole se realizează în condiții tehnico-ecologice avantajoase. Valorificarea complexă a subproduselor este determinată de ponderea mare a acestora și a substanțelor pe care le conțin (alcoolul etilic vinicol, acidul tartric și tartrații, uleiul de semințe, enocolorantul alimentar și făina furajeră), fiind utile diferitelor industrii (alimentară, chimică, farmaceutică, textilă, etc.) conform figurii 1.

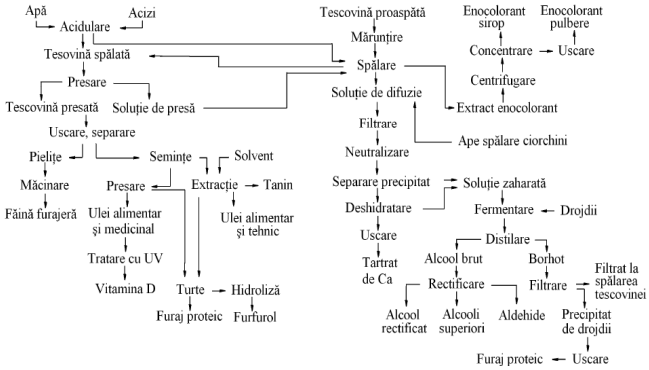


Fig. 1. Schema tehnologică de prelucrare complexă a tescovinei dulci.

Deșeurile vinificației cauzează probleme ecologice, deoarece neutralizarea și utilizarea deșeurilor fermentative conținând diferiți compuși, prezintă un pericol pentru mediu și sănătatea populației. Realizările tehnico-științifice curente permit propunerea unor mijloace de valorificare a deșeurilor cu un avantaj economic remarcabil (biogaz, bioetanol și biohidrogen), uneori acesta fiind mai mare decât cel obținut în urma producerii vinului.

În tehnologiile moderne de prelucrare a produselor viticole se prevede proiectarea și realizarea tehnologiilor integrate, în care produsul principal și produsele secundare să prezinte o atenție similară prin aplicarea unui grad de industrializare intensivă. Astfel, este evidentă importanța măsurilor ecologice de protecție a factorilor de mediu, fără a se pierde din vedere eficiența obișnuită prin valorificarea subproduselor.

THE ASSESSMENT OF PHYTOTOXICITY OF SOIL POLLUTED WITH ORGANOCHLORINE PESTICIDES

https://doi.org/10.52757/imb21.033

Josan Valentina, Rastimesina Inna, Postolachi Olga
Institute of Microbiology and Biotechnology, the Republic of Moldova
e-mail: valentina.imb@yahoo.com

At the current stage, in the Republic of Moldova, there are amounts of territories contaminated with pesticides. The abandoned storehouses, which previously contained persistent organic pollutants (POPs), were destroyed, and the remains of their foundations are a continuous source of soil contamination. The most frequently in polluted soil are determined the widely known organochlorine pesticides, used as insecticides: dichloro-diphenyl-trichloroethane (DDT) and hexachlorocyclohexane (HCH); these compounds being lipophilic, persistent, with a high degree of bioaccumulation, toxic, etc. Cultivated plants accumulate the chemical elements from the soil and once this soil is contaminated, their morpho-physiological development is changed. The method of phytoremediation of soils polluted with pesticides, is based on the use of the phytoextraction capacity of some plants – absorption and accumulation of dangerous contaminants in the body of plants (*Cucurbitaceae* family) or phytostimulation by creating a habitat and stimulating the development of destructive microorganisms (*Fabaceae* family, *Poacea* family). In accordance with the above mentioned, the aim of this study was to evaluate the phytotoxicity of soil contaminated with organochlorine pesticides on plant seeds, which are used in phytoremediation processes – oat and zucchini.

The objects of research were five soil samples, with a high content of persistent organic pollutants, selected from territory of the pesticide storehouse, located near the village of Slobozia-Dusca, Criuleni district. The sample of the reference soil (control soil) was taken at a distance of 200 m from the storehouse on the rising slope. The averaged soil sample was collected from the entire site's area. Three soil samples were collected from different zones of the site: sample 1 – near the basement of demolished storage, up the slope; sample 2 and 3 – down the slope. The soil plate method was used to evaluate the degree of phytotoxicity of the polluted soil, with the application of oat seeds (*Avena sativa* L.) and zucchini seeds (*Cucurbita pepo* L.). The degree of soil toxicity was determined by the difference in germ length between the experimental and control variants.

Analysis of the data showed that contaminated soil is toxic to oat and zucchini seeds; the degree of soil toxicity was 63.47% and 65.82%, respectively. The reference soil was not toxic to the tested seeds. The lowest degree of phytotoxicity – 48.05-51.26% was observed for the soil sample 1, which can be explained by the decrease of pesticide residues in the soil, due to the activity of the microbiota of the polluted soil. The highest degree of phytotoxicity – 97.95-98.42%, was observed for the soil sample 2, where strong inhibition of seedling growth was recorded. This can be explained by the accumulation in the soil of large amounts of pesticides, and probably sulfur compounds.

Thus, it was demonstrated that the soil contaminated with organochlorine pesticides, taken from the different locations of the former pesticide storage CR-Slobozia Dusca-01, have different degrees of phytotoxicity, which indicates that the site contains pollution of different nature and level, respectively, and the activity of soil microbiota differs.

This work has been realized with the support of State Program Project 20.80009.7007.20 (2020-2023).

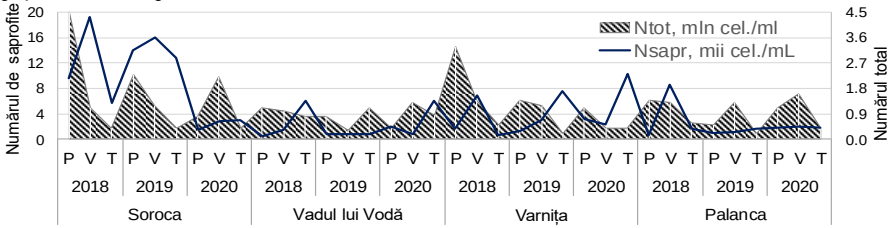
FUNCȚIONAREA BACTERIOPLANKTONULUI ÎN CONDIȚIILE ECOSISTEMULUI FLUVIULUI NISTRU (SECTORUL MOLDOVENESC)

https://doi.org/10.52757/imb21.034

Jurminskaia Olga, Negru Maria, Șubernețkii Igor
Institutul de Zoologie, Republica Moldova
ojur_aia@mail.ru

Compoziția comunităților bacteriene și dinamica procesului de sinteză microbiologică într-un corp de apă sunt strâns legate de factorii de mediu ai habitatului, cum ar fi temperatura apei, regimul gazelor, concentrația substanțelor biogene și organice, precum și prezența substanțelor toxice. Microorganismele acvatice sunt capabile să descompună și să mineralizeze substanțe organice de origine naturală (celuloză, chitină, lignină, humus, fenoli etc.) și xenobiotice sintetice, cum ar fi pesticide, detergenți, produse chimice de uz casnic și industrial, produse farmaceutice, etc. Lista noilor compuși chimici din corpurile de apă este în continuă creștere. Rezultatul poluării apelor de suprafață cu aceste substanțe chimice este apariția anumitor grupuri de microorganisme care nu sunt caracteristice ecosistemelor naturale. Pentru a evalua rolul bacterioplanctonului în remedierea mediului acvatic prin mineralizarea materiei organice, circuitul elementelor biogene și detoxifierea xenobioticelor, este necesar să aveți informații despre compoziția calitativă și cantitativă a comunităților microbiene și activitatea funcțională a acestora în mediul acvatic.

Lucrarea prezintă o analiză a rezultatelor monitoringului științific al ecosistemului fl. Nistru, realizat de Laboratorul de Hidrobiologie și Ecotoxicologie în 2018 – 2020. Dinamica sezonieră și spațială a bacterioplanctonului în sectorul moldovenesc al fluviului Nistru



a fost analizată în raport cu principalii parametri fizico-chimici ai habitatului (temperatura și acidifierea apei, saturația cu oxigen dizolvat, CBO_5) cu calcularea coeficienților de corelație:

Parameters	T,°C	O_2	CBO_5	pH	N sapr	N phdb	N hcdb
T,°C	1						
O_2, %	0.179	1			Autumn 2020		
CBO_5, mg/L O_2	0.415	0.378	1		phdb: phenol-degrading m.o.		
pH	-0.005	0.604	0.090	1	hcdb: hydrocarbon-degrading m.o.		
N sapr, cells/mL	-0.165	0.048	0.001	0.001	1		
N phdb, cells/mL	-0.159	0.041	-0.078	-0.092	0.628	1	
N hcdb, cells/mL	-0.634	-0.379	-0.741	-0.028	0.214	0.329	1

Concluzii: numărul total de bacterii (*Ntot*) este determinat în mare măsură de regimul hidrologic al Nistrului (apele mari de primăvară, inundații de vară); numărul bacteriilor saprofite (*Nsapr*) crește în zonele de poluare, de regulă, în perioada de vară-toamnă; analiza datelor stației Soroca confirmă potențialul bun de auto-purificare al ecosistemului Nistru: în 2020, punctul de prelevare la această stația a fost mișcat la 500 m în aval de râu, în timp ce calitatea apei pe baza parametrului *Nsapr* s-a schimbat de la clasa V (foarte poluată) la clasa III (moderat poluată); numărul microorganismelor care degradează compușii de hidrocarburi se corelează puternic negativ (R = -0,741) cu parametrul "Consumul biochimic de oxigen după 5 zile": este clar că apa Nistrului conține compuși greu degradabili, iar parametrul CBO_5 indică prezența substanțelor biodegradabile care pot fi mineralizate de către microflora acvatică în 5 zile.

Mulțumiri: investigațiile au fost realizate în cadrul proiectului instituțional de cercetări aplicative AQUASYS, proiectului internațional BSB 165 HydroEcoNex (Joint Operational Programme Black Sea Basin 2014-2020 of the European Union) și proiectului din cadrul Programului de Stat AQUABIO.

MICROORGANISMS FOR BIOREMEDIATION OF OIL-CONTAMINATED SOILS

https://doi.org/10.52757/imb21.035

Klishevich N.G., Ananeva I.N., Aleschenkova Z.M.
Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus
e-mail: nataliklis@mail.ru

The Republic of Belarus is not a large oil-producing state, but it has industrial facilities that transport, store, and process oil. Oil and its refined products are the most common pollutants contaminating the biosphere and creating serious environmental problems. The total length of oil pipelines within the territory of Belarus is 2.9 thousand km. In recent years more than 10 accidents resulting in oil spills have been reported for main crude oil and refined product pipelines, which led to significant soil contamination with hydrocarbons, varying from minor (under 5 mg/kg) to high (over 100,000 mg/kg) values. The mechanism of self-recovery of the ecosystems affected by oil pollution is long-lasting and rather complicated. The need for development and implementation of the technologies of remediation of environments exposed to oil contamination is very urgent for Belarus. The degradation of oil in the soil can be accelerated by promoting the metabolic activity of the natural microflora and applying the oil-degrading microorganisms.

The aim of this study was to assess the efficiency of the following microbial stains of potential oil degraders: *Rhodococcus ruber* 1NG-30P, *Bacillus subtilis* 2-4-201N, *Rhodococccus wratislaviensis* G-13, *Bacillus amyloliquefaciens* 4NG-PSD, *Bacillus amyloliquefaciens* BP 1.1 and *Gordonia alkanivorans* BP 1.2.

The hydrocarbon-oxidizing microorganisms isolated from oil-contaminated soil possessed a high decomposing activity for a wide range of xenobiotics, and they were capable of active degradation of the Belarusian oil (with the density of 0.91 g/cm^3) at concentrations 1-10%. In batch cultures in liquid mineral medium containing 0.125% hexadecane, the strains of *R. ruber* 1NG-30P, *R. wratislaviensis* G-13 and *G. alkanivorans* BP 1.2 reached the biomass levels of 7.6, 7.6 and 7.2 g/l, respectively. The strains of *B. subtilis* 2-4-201N, *B. amyloliquefaciens* 4NG-PSD and *B. amyloliquefaciens* BP 1.1 had the biomass concentrations of 6.7, 6.4 and 6.1 g/l, respectively.

Amplification of the gene region using primers *nif*H-1F and *nif*H-1R showed that a specific PCR product with the size of ~ 430 bp. was present only in the positive control (*Rhanella aquatilis* B-704) and in *Rh. wratislaviensis* G13, and was not in the other strains. Based on the obtained data, it was suggested that *Rh. wratislaviensis* G13 was a nitrogen fixer, since it had the *nif*H gene, responsible for the synthesis of nitrogenase. The biochemical analysis demonstrated the ability of the studied strains to produce indolyl-3-acetic acid. Indolyl-3-acetic acid production was 10.5, 7.2, 5.4, 5.2, 1.8 and 0 μg/ml for *B. subtilis* 2-4-201 N, *B. amyloliquefaciens* BP 1.1, *B. amyloliquefaciens* 4NG-PSD, *Rh. wratislaviensis* G13, *Rh. ruber* 1NG-30P and *G. alkanivorans* BP 1.2, respectively, and this ability indicated their plant growth promotion activity.

Thus, the strains of *R. ruber* 1NG-30P, *B. subtilis* 2-4-201N, *R. wratislaviensis* G-13, *B. amyloliquefaciens* 4NG-PSD, *B. amyloliquefaciens* BP 1.1 and *G. alkanivorans* BP 1.2 can use oil and other xenobiotics as the only source of energy, and, consequently, can be used for minimization of the consequences of oil spills in soil. Their beneficial effect on plant growth opens additional perspectives in the field of soil bioremediation aimed at the restoration of soil biological activity and fertility.

TULPINI DE BACTERII CU EFECT NEMATOCID

https://doi.org/10.52757/imb21.036

Melnic M., Rusu Ş., Todiraş V.*, Lungu A.*, Slanina V.*
Institutul de Zoologie, MECC, Chişinău, Republica Moldova,
**Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, MECC, Chişinău, Republica Moldova*
e-mail:mariamelnic@gmail.com

Nematodele parazite la plantele de cultură, cauzează pagube majore de recoltă la nivel mondial. În Republica Moldova, prin nocivitate şi importanţă economică se deosebesc 2 specii din genul *Ditylenchus – D. destructor*, parazit al tuberculilor de cartofi (Fig. 1) şi *D. dipsaci*, parazit al culturilor gen. *Allium*. Procentajul invaziilor la recoltele acestor culturi în perioada de păstrare constituie deseori 35-45%. Conform datelor OEPP/EPPO (2008), sunt organisme de carantină fitosanitară la nivel internațional.

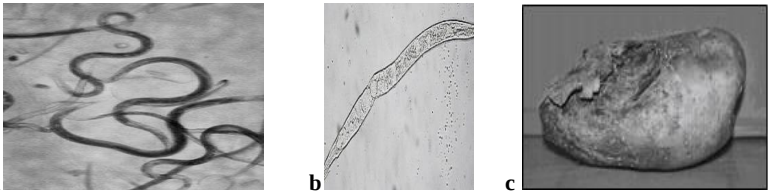


Fig. 1. Nematode vii *D.destructor* (a) și moartă (b), după contactul cu bacteriile; cartof infestat (c).

Actualmente, în combaterea nematodelor fitoparazite au progresat produsele biologice. După părerile mai multor autori, agricultura sustenabilă a secolului XXI va trebui să reconsidere combaterea biologică, partea componentă a controlului integrat, ca alternativă viabilă la chimizarea excesivă. Folosirea unor produse mai prietenoase, care să reducă substanțial contactul uman cu pesticidele chimice este alternativa viitorului.

Reieșind din această situație în cadrul a două instituții de cercetări științifice ale MECC – Institutul de Zoologie și Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, au fost efectuate vaste cercetări în scopul evaluării unor tulpini de bacterii, cu proprietăți benefice pentru plante, inclusiv capacitatea de distrugere a nematodelor. Prin cercetări efectuate *in vitro* au fost obţinute rezultate eficiente în procesele de testare a contactului dintre nematodele *D.destructor, D.dipsaci* cu lichidul cultural (LC) al unui şir de tulpini de bacterii, de proveniență din Republica Moldova, cunoscute ca stimulatoare ale mecanismelor protective/rezistenţă ale plantelor, din genurile *Pseudomonas* (10 tulpini) şi *Rhizobium* (4 tulpini). Prin eficacitate nematocidă sporită sau deosebit: *P. fluorescens*, *P. aurantiaca, Pseudomonas* sp. *4RBN*, *Pseudomonas* sp. *2RŞB, Pseudomonas* sp. *3RŞB*, *Rhizobium japonicum RD2, R. japonicum 646a* şi *R. phaseoli* F1, care au exercitat acţiune letală asupra nematodelor fitoparazite în proporţii de 70-80 %, prin expunere la un interval de timp de 24 ore; 90-92% – de 48 ore şi 95-98 % – de 72 ore. Modul de acţiune este similar. Speciile de bacterii pătrund în interiorul corpului nematodelor, unde provoacă infectarea organelor interne. La un interval de timp de 7-8 zile, în variantele experimentale, unii indivizi ale nematodelor încep să se deformeze (Fig. 1). După 12-14 zile, la microscop se observă o destrugere totală a intestinului, ovarului, oviductului etc., situate în cavitatea generală a corpului. Datele obținute de noi demonstrează posibilitatea utilizării bacteriilor cercetate în tehnologiile microbiologice de elaborare a preparatelor biocontrolului în protecţia culturilor agricole.

Lucrarea a fost executată în cadrul proiectului de cercetări fundamentale 20.80009.7007.12, realizat cu suportul financiar al ANCD.

BOALA CORONAVIRUS ȘI FACTORII CU RISC METABOLIC CRESCUT – PROBLEME ȘI SOLUȚII

https://doi.org/10.52757/imb21.037

Mereuță Ion, [1]Tomșa Anastasia, Baciu Anatol, Cebotari Anghela, Fedaș Vasile
Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie, Republica Moldova
[1]Centrul Național de Management în Sănătate din Republica Moldova
e-mail: vasilefedash@gmail.com

Omul ca parte componentă, și poate cea mai importantă, a mediului ambiant este în permanență expus factorilor de risc pentru sănătate. Marea provocare a mileniului trei produsă de virusul SARS CoV-2 vine să confirme odată în plus această afirmație. Apărută spontan în provincia chineză Wuhan la 12 decembrie 2019, manifestându-se la început ca o epidemie locală, boala coronavirus s-a extins rapid pe întreg mapamondul, căpătând un caracter global constant cu grave repercusiuni asupra întregii civilizații umane, afectând grav toate domeniile de activitate, cu efect devastator și recunoscută de Organizația Mondială a Sănătății ca pandemie pe 11 martie 2020.

Fenomenul Covid-19 a ridicat foarte multe semne de întrebare legate de noua boală Coronavirus cu extindere și progresare rapidă și o evoluție imprevizibilă cu posibile mutații.

Primele cazuri de coronaviroze în România și Republica Moldova s-au confirmat pe 26 februarie și respectiv 7 martie 2020. Statisticile pentru Republica Moldova nu diferă cu mult de statistica globală – o incidență și prevalență în continuă creștere a morbidității și mortalității populației. Încă din start s-a observat vulnerabilitatea persoanelor cu comorbidități și mortalitate crescută anume la acest contingent. O analiză statistică preliminară a lunilor martie-decembrie 2020 demonstrează elocvent acest lucru. Astfel, din numărul total de decese înregistrate în această perioadă – 2846, comorbiditățile au constituit 1905 persoane, adică 66,93% dintre care în mediul rural 1197 (57,56%) și cel urban 1649 (73,74%). O pondere atât de mare a comorbidităților este constituit în circa 90% din obezitate, diabet zaharat tip I și II și hipertensiune arterială.

Cercetări recente au arătat, că aceste comorbidități sunt expuse unui proces imunoinflamator sistemic provocat de factorii pro-inflamatori IC-β, care reglează expresia altor citokine, adipokine și chemokine: Interleukina-6 (IL-6), factorul TNF-α (factorul de necroză tumorală), chemokinele cu receptorii CCR2 și CCR5. Acești factori sunt activați de prezența SARS CoV-2, astfel agravându-se evoluția bolilor metabolice. În același timp este activată inflamația sistemică. În paralel cresc nivelul coagulabilității și inhibarea fibrinolizei cu un exces de activare a trombocitelor, urmate de o creștere a markerilor proinflamatori și de formarea microtrombilor și afectarea organelor vitale ale sistemului cardio-respirator și cerebral. Simultan apare pericolul coinfecțiilor bacteriene și virotice pulmonare. De rând cu accentuarea răspunsului imun și inflamator la invazia virusului, acesta din urmă participă direct la deterioarea insulelor pancreatice și eliberarea de enzime legate de leziuni tisulare, răspunsuri inflamatorii hiperreactive și stare hipercoagulabilă, creșterea riscurilor de pneumonie severă, asociată cu metabolismul glucozei alterat în comparație cu persoanele non-diabetice și non-obeze. Aceste mecanisme încă neelucidate până la capăt ne oferă oricum niște dovezi concludente, iar măsurile de prevenție cu un management clinic efectiv la etapa de incubație și cea incipientă, cu strategii terapeutice avansate și o medicație țintă antiinflamatorie și anticoagulantă pe fundalul unei terapii antivirale și antibacteriene, pe prim plan rămânând măsurile stricte de precauție și prevenție, ar putea reduce numărul complicațiilor severe, urmate de decese.

EFECTELE SINERGISMULUI PLANTE-MICROORGANISME PRIVIND FITOREMEDIEREA SOLURILOR POLUATE CU METALE GRELE

https://doi.org/10.52757/imb21.038

Minuț Mariana[1], Roșca Mihaela[1,2], Cozma Petronela[1,2], Diaconu Mariana[1], Gavrilescu Maria[1,3]

[1]*Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iași, Facultatea de Inginerie Chimică și Protecția Mediului "Cristofor Simionescu", Departamentul de Ingineria și Managementul Mediului, Bd. Prof. D. Mangeron nr. 73, 700050 Iasi, România*

[2]*Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad" din Iași, Facultatea de Horticultură, Departamentul Tehnologii Horticole, Aleea 3 Mihail Sadoveanu, 700490 Iași, România*

[3]*Academia Oamenilor de Știință din Romania, Str. Ilfov nr. 3, 050044 Bucuresti, România*

e-mail: minut.mariana@yahoo.com

Prezența metalelor grele în sol (nichel, cadmiu, plumb, cupru, zinc) provenite din diferite activități (utilizarea în agricultură a nămolurilor provenite de la epurarea apelor uzate, depozitarea deșeurilor, utilizarea pesticidelor și a fertilizatorilor, activități industriale) provoacă efecte negative asupra fertilității și structurii solului, creșterii și dezvoltării plantelor, precum și asupra sănătății umane. În acest context, eliminarea metalelor din sol devine o prioritate în scopul protejării sănătății umane și a mediului înconjurător, dar și o mai bună conservare a resurselor pentru generațiile viitoare.

În ultimii ani s-a acordat o atenție deosebită tehnologiilor „verzi" derivate din biotehnologii. Fitoremedierea este o metodă de eliminare a metalelor grele din sol utilizând specii de plante care trebuie să îndeplinească o serie de caracteristici precum: creștere rapidă, sistem radicular ramificat, producție ridicată de biomasă, capacitatea de a tolera și de a acumula cantități mari de metale grele. Creșterea și dezvoltarea plantelor în prezența metalelor grele este favorizată de prezența bacteriilor care promovează creșterea plantelor (PGPB). Între bacterii și rădăcinile plantelor se pot forma legături simbiotice care sunt benefice, atât pentru plantă, dar și pentru microorganismele ce se dezvoltă pe suprafața, în jurul sau în interiorul rădăcinilor. PGPB pot facilita creșterea și dezvoltarea plantelor prin mecanisme directe producția de fitohormoni, fixarea azotului, solubilizarea fosfatului și a potasiului, și indirecte care privesc protejarea plantelor împotriva agenților patogeni. De asemenea, bacteriile, care promovează creșterea plantelor, conferă acestora rezistență la metalele grele și cresc toleranța față de toxicitatea acestora.

În acest context, scopul prezentei lucrări este de a analiza efectele benefice ale bacteriilor *Azotobacter chroococcum, Bacillus subtilis* și *Pseudomonas fluorescens* asupra creșterii plantelor *Sinapis alba* L. (muștar alb), *Brassica napus* L. (rapiță) și *Amaranthus retroflexus* L. (știr) în vederea utilizării ulterioare în procesul de fitoremediere a solurilor contaminate cu metale grele.

Experimentele s-au realizat în vase de polipropilenă cu volumul de 30 mL, fiecare conținând 15 grame de sol steril/nesteril și 2 semințe. Plantele au fost crescute în perioada 9 Septembrie - 3 Octombrie 2019, în condiții de laborator. Rezultatele au arătat că fiecare bacterie a stimulat în mod diferit creșterea plantelor. De exemplu, în solul nesteril, *Pseudomonas fluorescens* a stimulat cel mai mult creșterea tulpinilor muștarului cu 25,15%, iar lungimile tulpinilor știrului au fost mai mari cu 25 mm în prezența bacteriei *Bacillus subtilis* comparativ cu proba martor, în solul steril.

Mulțumiri. Această lucrare a fost susținută de un grant al Autorității Naționale Române pentru Cercetare Științifică, CNCS - UEFISCDI, numărul proiectului PN-III-P4-ID-PCE2016-0683, Contract nr. 65/2017 și de un grant al Ministerului Educației și Cercetării din România, CCCDI - UEFISCDI, numărul proiectului PN-III-P2-2.1- PED-2019-5239, Contract nr. 269PED / 2020, în cadrul PNCDI III.

EFFECT OF FULLERENE AND FULLERENE-CHITOSAN COMPLEX ON THE GROWTH, PEROXIDASE ACTIVITY AND CADMIUM TOLERANCE RESPONSES OF BARLEY SEEDLINGS

https://doi.org/10.52757/imb21.039

Molchan Olga[1], Kurnushko Anna[1], Podborskaya Lubov[1], Rastimesina Inna[2]
[1] *The Institute of experimental botany, Belarus*
[2] *Institute of Microbiology and Biotechnology, the Republic of Moldova*
e-mail: olga_molchan@mail.ru

Fullerene is one of the forms of carbon nanoparticles. Analysis of the literature data shows that the effects of fullerenes and their derivatives on plants are very contradictory (Zaytseva O. and Neumann G., 2016). It had been shown that C_{60}-fullerene reduced the growth of biomass of corn and soybean seedlings. On the other hand, it was found that polyhydroxylated fullerene stimulated seed germination, accumulation of biomass and metabolites in the tissues of the tropical liana *Momordica charantia*. Moreover, fullerenes can reduce the effects of some dangerous toxins and absorb antibiotics and organic pollutants (Zaytseva O. and Neumann G., 2016). It had been also shown high adsorption of lead and copper (III) by carbon nanomaterials (Zaytseva O. and Neumann G., 2016). Significant advantages of carbon nanoparticles as sorbents are provided by large surface area, mechanical and thermal stability and potential antibacterial properties. This application of nanoparticles appears to be extremely important in sustainable agriculture and the need to prevent environmental pollution.

Nanotechnology based on carbon nanomaterials could improve strategies for eliminating pollutants or reducing their bioavailability. Additional sorbing properties can be provided by the functionalization of carbon nanoparticles with chitosan. Chitosan is a universal sorbent capable of binding a wide range of organic and inorganic substances. Chitosan also demonstrates antibacterial, antifungal and antiviral properties.

The purpose of this work was to obtain a fullerene-chitosan complex and to study effects of fullerene and fullerene-chitosan on the growth of barley seedlings. Another purpose was to study the modification of physiological processes of barley seedlings by fullerene and fullerene-chitosan in presence of cadmium salts. Cadmium is the one of the most widespread and dangerous heavy metals. It is well known that the accumulation of potentially toxic heavy metals in soil and water has become a global environmental threat. The increased content of heavy metals can pose huge risks to ecosystems and human health.

Fullerene and fullerene-chitosan complex (10-500 mg/L) were used in this work. A fullerene-chitosan complex was synthesized in the Institute of bioorganic chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus. The effects of fullerene and fullerene-chitosan on physiological parameters of barley seedling were measured. Dry weight, relative water content, content of chlorophyll, flavonols, and nitrogen balance index (NBI) of 5-14 day old seedlings were evaluated. It was found that fullerene and fullerene-chitosan did not significantly affect on physiological parameters in control conditions. At the same time, both fullerene and fullerene-chitosan stimulated the accumulation of dry mass, chlorophyll content and NBI in plants grown in presence of cadmium. The fullerene-chitosan complex was especially effective under cadmium stress: the studied parameters increased by 40%, i.e. almost to the level of control. It was also noted that fullerene and fullerene-chitosan increased peroxidase activity in the leaves of seedlings in control and reduced this parameter under cadmium stress. The fullerene-chitosan complex also demonstrated peroxidase-like catalytic activity higher than those of fullerene.

Thus the observed effects most likely indicate the sorption of cadmium ions by fullerene and, especially, fullerene-chitosan and possible peroxidase-like catalytic activity of fullerene-chitosan. Moreover the obtained data allow us to conclude that the modification of the physiological and biochemical processes in the aerial part of seedlings during cadmium tolerance responses by fullerene and fullerene-chitosan is accompanied by a change in the ROS metabolism.

DIVERSITATEA MICROMICETELOR DETERMINATE ÎN LACUL „LA IZVOR”

https://doi.org/10.52757/imb21.040

Moldovan Cristina
Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Republica Moldova
tina-92@mail.ru

Micromicetele sunt o componentă permanentă și foarte importantă a ecosistemelor acvatice. Primele studii taxonomice ale ciupercilor din apă au început abia la începutul secolului al XIX - lea. În present, cunoștințele despre ciupercile acvatice s-au extins semnificativ, dar, totuși, sunt cele mai puțin studiate grupuri taxonomice ale organismelor acvatice. Participarea activă a micromicetelor la procesele biologice din apă se datorează prezenței puternice a sistemelor enzimatice. Celulele lor sintetizează activ enzime - amilolitice, proteolitice, care sunt eliberate în mediul acvatic. Astfel, prezența complexelor fungice in apă implică participarea lor activă la procesele de distrugere a substraturilor organice.

Scopul cercetărilor a constat în izolarea și studierea micromicetelor din lacul „La izvor”, municipiul Chișinău. Studiul biodiversității micromicetelor acvatice a lacului „La izvor” s-a efectuat conform metodelor clasice. Probele de apă, nămol și biofilm au fost prelevate din cele 3 lacuri ale bazinului acvatic. Pentru izolarea și studierea micromicetelor s-au utilizat 5 medii specifice: agar nutritiv, Saburoud, malț - agar, Czapek (pH = 10, pH = 5, pH = 7), Raistrick. Inhibarea bacteriilor, in mediul de creștere, s-a efecuat cu soluție de levomicetină. Coloniile de micromicete au fost izolate în cultură pură și studiate particularitățile lor morfo - culturale. Pentru a determina apartenența genului toate culturile au fost examinate atât vizual, cât și la microscop.

În rezultatul studiului efectuat au fost izolate și studiate 247 tulpini de micromicete din apă, nămol și biofilm, care se deosebesc după particularitățile morfologice și culturale. În dependență de locul aflării (apă, nămol, biofilm), numărul izolatelor a fost diferit. Astfel, din apă au fost izolate și studiate 85 tulpini, din nămol - 87, iar din biofilm - 75 tulpini. În rezultatul cercetărilor efectuate s-au depistat 18 genuri de micromicete prezente în probele de apă, nămol și biofilm: *Penicillium, Aspergillus, Trichoderma, Alternaria, Fusarium, Botrytis, Monilia, Mucor, Rhizopus, Acremonium, Cladiosporum, Trichocladium, Phoma, Chaetomium, Stachybotrys, Ulocladium, Ambrosiella, Talaromyces.*

Din numărul total de micromicete izolate din apă, au predominat reprezentanții genurilor *Penicillium* și *Aspergillus*. Astfel, au fost izolate 18 tulpini de *Penicillium*, 12 tulpini de *Aspergillus*, 8 tulpini de *Trichoderma*, 6 tulpini de *Alternaria*, 4 tulpini de *Fusarium, Botrytis, 3* tulpini *de Acrenomium.* Au fost depistați și reprezentanți ai genurilor *Monilia, Mucor, Rhizopus, Cladisporum* a câte 2 tulpini fiecare, si din genurile *Arthrinium, Ulocladium, Chaetomium* - câte o tulpină. Toate tulpinile care aparțin aceluiași gen se deosebesc după particularitățile morfologice și culturale, deci pot aparține diferitor specii.

Din nămol, cele mai multe tulpini aparțin genurilor *Aspergillus și Penicillium* (12), urmat de genul *Alternaria* (8), *Trichoderma* și *Fusarium* a câte 5 tulpini, din genul *Mucor, Rhizopus*, a câte 4. De asemenea au fost identificate câte 1 - 2 tulpini din genurile: *Botrytis, Monilia, Talaromyces, Chaetomium, Cladiosporum, Phoma, Ambrosiella, Trichocladium, Ulocladium*.

În biofilm cele mai răspândite genuri au fost *Aspergillus* cu 17 tulpini, urmat de genul *Penicillium* - 10 tulpini, *Alternaria - 7, Trichoderma* – 4, *Mucor, Rhizopus* - 3 tulpini, care diferă după particularitățile morfo - culturale. Celelalte genuri au fost reprezentate de 1 - 2 tulpini diferite.

Prin urmare, se poate deduce concluzia, că complexul fungic din lacul „La izvor” este reprezentat de o gamă largă de culturi care aprțin diferitor genuri.

Rezultatele științifice expuse au fost obținute în cadrul proiectului: 20.80009.7007.09 „Conservarea și valorificarea biodiversității microbiene în calitate de suport pentru dezvoltarea tehnologiilor și agriculturii durabile, integrarea științei și educației”, finanțat de Agenția Națională pentru Cercetare și Dezvoltare (ANCD), Republica Moldova.

USING HALOTOLERANT BACTERIA TO STIMULATE PLANT GROWTH UNDER TECHNOGENIC SALINIZATION CONDITIONS

https://doi.org/10.52757/imb21.041

Naumovich N.I., Safronova H.V., Ananyeva I.N., Aleschenkova Z.M.
Institute of Microbiology, NAS of Belarus, Minsk, Republic of Belarus
E-mail: naumovichnadezda@yandex.ru

Technogenic salinization is one of the factors of soil degradation. In Belarus, soil salinization is most acutely felt in the potash mining area. During the operation of JSC "Belaruskali" since the early 60s of the XX century, more than 730 million tons of solid clay-salt sludge have accumulated on previously fertile lands of about 2 thousand ha area. Application of microbial preparations will allow to cope with the consequences of soil salinization, imbalance of mineral nutrition elements in them and increase plant vitality. The use of microbial preparations is economically profitable and environmentally justified, since they are inexpensive and reduce the adverse effects of salinity without environmental risks.

Halotolerant strains of nitrogen-fixing and phosphate-solubilizing bacteria were isolated at the Institute of Microbiology, NAS of Belarus from the solid salt waste of the Starobinsky potash deposit of JSC "Belaruskali". The derived halotolerant strains of the genera *Rhodococcus* and *Priestia* are compatible, complement each other with agronomically valuable and degradation properties, and stimulate plant growth under salinization conditions. Halotolerant strain of *Rhodococcus* genus is resistant to 7% sodium chloride level in the medium, possesses nitrogen-fixing activity (nitrogenase activity in pure culture 155.8 nM C_2H_4 vial/day), phosphate-solubilizing action (diameter of calcium phosphate dissolution 8.7 mm) and growth-stimulating effect, which is due to the synthesis of auxin (52.93 μg/ml of cultural liquid), degrades crude oil and its refining products (industrial oil, diesel fuel, kerosene, hexadecane). Halotolerant strain of *Priestia* genus is resistant to 15% sodium chloride concentration in the medium, possesses phosphate-solubilizing activity (diameter of calcium phosphate dissolution zone 10.0 mm), growth-stimulating effect, which is due to the synthesis of auxin (24.33 μg/ml of cultural liquid), produces precursors of proline and betaine osmolytes enhancing plant resistance to water deficit during soil salinization.

In recent years, microorganisms and plants have been widely used for the remediation of contaminated ecosystems. The application in phytoremediation of saline soil of microbial-plant association based on halotolerant strains and a perennial legume culture *Lotus corniculatus* has a positive effect on all biometric parameters of *Lotus* plants at various salt concentrations.

The seed treatment and the introduction of halotolerant nitrogen-fixing bacteria of the genus *Rhodococcus* into *Lotus corniculatus* rhizosphere has a stimulating effect on seed germination and the seedling length under salinity conditions. In the experimental versions with the concentration of sodium chloride from 1 to 5%, the germination of the treated seeds is higher by 5–19%, and the length of the seedlings – by 3–19%, respectively, in comparison with the variant without seed treatment. Inoculation of *Lotus corniculatus* seeds by a strain of the genus *Priestia* increases their germination rate at NaCl concentration 1 to 5% by 2–15%, the length of the seedlings – by 13–25% compared to the variant without inoculation.

Based on a consortium of halotolerant strains of genera *Rhodococcus* and *Priestia*, the microbial fertilizer "Biotilia" was developed (TS BY 100289066.163-2020) to reduce soil salinity and improve plant growth on saline and hydrocarbon-contaminated soils. The use of microbial fertilizers restores the nitrogen-phosphorus balance of soils by biological method, reduces the content of sodium chloride and oil hydrocarbons in soils of various types, promoting thereby the growth and development of plants.

INFLUENCE OF NEW BIOACTIVE COMPOUNDS ON THE INTENSITY OF THE PROTEIN METABOLISM IN ANIMALS IN THE BLOOD SERUM UNDER PHYSIOLOGICAL CONDITIONS

https://doi.org/10.52757/imb21.042

Pantea Valeriana, Sardari Veronica, Andronache Lilia, Gamaniuc Marina, Gudumac Valentin

State University of Medicine and Pharmacy Nicolae Testemitanu, Chisinau, the Republic of Moldova

valeriana.pantea@usmf.md

Neoplastic diseases continue to be the main focus of the specialists because of their social impact, or cancer is one of the main causes of morbidity and lethality of the worldwide population, which is connected to the imperfection of the used therapeutic means. In this aspect, a special attention deserve the biologically active compounds (CBAs) - new Schiff bases and their coordinative compounds with [3d] metals, which exhibit antiproliferative and cytotoxic properties, exceeding tens and hundreds of times antitumor activity of doxorubicin [Gulea A., et al., 2008; Jalbă S., 2015], but their action on normal tissues is insufficient studied. Based on these considerations, the **aim** of research was to study the peculiarities of the influence of the new non-platinum metal coordination compounds (CC) with chelation and macrolydic ligands – CMA-18, CMA-34, CMD-8, CMG-41, CMJ-33, CMT-67, MG-22, TIA-123, TIA-160 on the intensity of the protein metabolism in the blood serum of the experimental animals under physiological conditions.

Biological activity of the CC, was evaluated in experiments on a group of 50 male rats Wistar line, randomly divided into 10 groups. The first group – control (sham), were injected i/m saline solution daily for 30 days. The experimental animals from groups 2-10 were administered subcutaneously the studied CC three times a week for 30 days: group 2 – CMA-18 (100 nM/kg), group 3 – CMA-34 (1000 nM/kg), group 4 – CMD-8 (100 nM/kg), group 5 – CMG-41 (100 nM/kg), group 6 – CMJ-33 (100 nM/kg), group 7 – CMT-67 (1000 nM/kg), group 8 – MG-22 (100 nM/kg), group 9 – TIA-123 (100 nM/kg) and group 10 – TIA-160 (100 nM/kg). The protein metabolism indices - activity of alanine aminotransferase (ALAT), aspartate aminotransferase (ASAT), γ-glutamyl transpeptidase (γ-GTP), pseudocolinesterase (PCE), the content of total proteins, albumin were determined.

The study revealed that the functional level of ALAT decreased statistically significant by 23% ($p<0,05$) under the influence of CMA-18 and by 33% ($p<0,01$) under the influence of CMJ-33 and the most of the studied CC induced just a discrete decrease tendency. The activity of ASAT practically remained at the level of intact animals, except CMJ-33 which diminished by 9% ($p<0,05$) its level compared with the control group. Diminished activity of ALAT and ASAT denotes a reduced intensity of protein synthesis. The tested CC did not influence conclusive the levels of total proteins. The content of albumin practically remained at the level of intact animals, except TIA-123 and TIA-160 which decreased statistically conclusive by 14%-15% ($p<0,05$) and inconclusive decreased by MG- 22 with 13% compared with the control. At the same time activity of γ-GTP, which is the key-enzyme of the γ-glutamyl cycle, responsible for the transport of amino-acids through cell membrane, is basically maintained at the normal levels by CMA-18 and TIA-160, increased statistically significant by 65%-79% under the influence of CMG-41, CMT-67, MG-22 and CMD-8, and exhibits a discrete increase tendency by CMA-34, CMJ-33 and TIA-123. The functional level of PCE increased statistically significantly by 20%-50% after administration of the compounds TIA-123, TIA-160, CMD-8, CMT-67, MG-22, which indicates at the elevated proteosynthetic function of the liver.

Conclusions: The influence of the tested CC on the intensity of the protein metabolism is selective. This selectivity can be the foundation of their particular strong antiproliferative and cytotoxic selective action upon the tumor cells, but not on the healthy one.

This study was supported by the State Program (2020-2023) of the Republic of Moldova (research grant No. 20.80009.5007.10).

POULTRY IN THE CONTINUATION OF THE IMPROVEMENT OF BIOTECHNOLOGIES FOR OBTAINING PRODUCTS FROM THE FOOD INDUSTRY

https://doi.org/10.52757/imb21.043

Petcu Igor, Balan Ion, Demcenco Boris, Osadci Natalia, Rosca Feodora, Gramovici Ana
Institutul Ştiinţifico-Practic de Biotehnologii în Zootehnie şi Medicină Veterinară, the Repubic of Moldova
e-mail: petcuigorr@gmail.com

The integral food products, especially those of poultry origin, have played a key role in human life and have had a major influence on health status. Compared to other sectors of animal husbandry, poultry farming was imposed very difficult as an important branch of animal products. Over time, domestic birds were raised only in small flocks and in an empirical way, without any scientific concerns regarding nutrition, shelter and rational maintenance. Meanwhile, poultry production has grown rapidly, which makes poultry meat and eggs constantly available on the market in large quantities and at low prices compared to other animal products.

Improving the quantity and quality of animal products is impossible without the use of modern nutrition and feeding based on scientific principles. Currently it is indispensable the use of feed additives, a group of chemical and biological substances that, added to food, meet certain specific requirements, stimulate the growth rate or production of animals, or ensure a good conversion of food.

During his phylogenetic evolution, man permanently changed the relationship with food, each civilization had a special type and way of nourishment, so we can say about feeding that it is a complex process that was formed and improved during evolution through continuous adaptation of production, processing and metabolizing food systems under existing environmental conditions. Food has always played a key role in human life, its quality and defects decisively influence health state, and the food market is growing at a rapid pace. Specialists expect that at world level, animal products market will reach maximal levels.

The poultry product is a precious food for man and an indispensable raw material for food industry. An important protein source, as well as other nutritive substances, poultry and eggs, when consumed rationally, represents a real stimulant for organisms' metabolic functions, leading to increased resistance to disease and helping to strengthen the nervous system.

Industrial progress of food technologies suppose in many cases, obtaining of refined products, very concentrated in energy but poor in active biological substances. Such products are the ones that produce imbalances, because they treats with priority the sensorial function, neglect the nutritional one and last but not least ignore the protective function. The result has been the apparition and evolution of some nutritional diseases like cancer, diabetes, and cardiovascular disease. Therefore, there was a need for foods that contain active substances with beneficial effects on both human and bird health.

Various raw material and foodstuff products are easily altered, which considerably reduces their storage period. Prolongation of food storage period is necessary to eliminate the seasonal nature of consumption, increase the availability for consumer and reduce the loss of perishable foodstuff products, by using of some preservation procedures for maintaining their quality. Poultry products are an excellent source of vitamins and minerals, especially of assimilable phosphorus and iron, and are easily digestible.

At the same time, poultry and eggs are an ideal source of essential amino acids and a combination of vitamins and minerals that couldn't be founded in any other food.

Vitamins from poultry products allow satisfying the requirements of human, depending on nutritional conditions that birds benefited.

Thus, considering the composition of food, as a material support of life, the nutrition just makes deeper the fundamental links between man and food.

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS* ALGAL EXTRACTS DURING LIFE CYCLE

https://doi.org/10.52757/imb21.044

Plingau Ecaterina
Institute of Microbiology and Biotechnology, the Republic of Moldova
e-mail: kateaplingau@gmail.com

The green microalga *Haematococcus pluvialis* has a specific biosynthetic activity at each growth phase, which includes synthesis, accumulation and transformation of carotene. *Haematococcus pluvialis* can accumulate up to 5% of the total cellular dry weight as astaxanthin, making it the best natural source of this high - value carotenoid pigment. The research was carried out to monitor the evolution of antioxidant activity of the active components of *Haematococcus* biomass during its life cycle.

Inoculum of red aplanospores was used to initiate a new growth cycle by germinating with the formation of green motile flagellates. This early vegetative growth phase lasted for 9 days. In the next 4 days of the cultivation cycle, *H. pluvialis* formed spherical nonmotile palmelloid cells. Astaxanthin synthesis was artificially induced by strong illumination. The transition of astaxanthin accumulating palmella cells to red aplanospores lasted for 3 days.

Ethanolic extracts were prepared from *H. pluvialis* biomass collected over the life cycle, to assess their radical scavenging capacity. The antioxidant tests were performed to reduce the radical cation $ABTS^{\bullet+}$ (2,2′-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) and the DPPH radical (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) as oxidants.

The results of ABTS assay revealed that the biosynthetic activity of the culture in the phase of green motile cells (days 1-9) showed stability of the antioxidant activity values. The ethanol extracts from the biomass of *H. pluvialis* in the palmelloid phase (days 10-13) and the red aplanospore phase (days 14 - 16) exhibited a linear increase in antioxidant activity with the maximum recorded on the last day corresponding to the stage of life cycle (Figure 1).

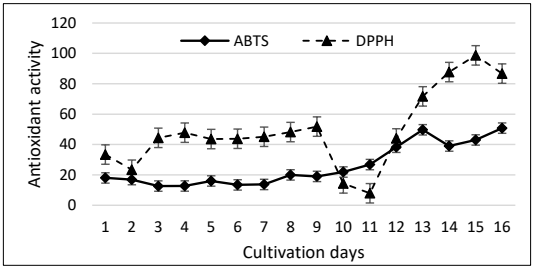


Fig. 1. The antioxidant activity (ABTS, DPPH) of the ethanolic extracts from *H. pluvialis* biomass obtained during cultivation cycle (16 days).

The DPPH assay also demonstrated a stability of values for the culture extracts obtained during green motile cells with a drastic reduction in antioxidant capacity in the last days of this vegetative growth phase. The reduction of β-carotene content in the cells affected the antiradicalic capacity. In *H. pluvialis* culture across the palmelloid phase (days 10 - 13) and the red aplanospore phase (days 14 - 16), the effect of a linear increase in antioxidant activity with the maximum recorded on the 15th day of the cultivation cycle was maintained. In the aplanospore stage with maximum accumulation of astaxanthin, the values of DPPH *assay* varied insignificantly – from 87% to 98% of inhibition. The stability of antioxidant values during green motile phase was the result of the active biosynthetic activity.

The encystment process involved reorienting carotenoid pigments towards the formation of astaxanthin. Hence, antioxidant tests showed a linear increase in the free radical scavenging activity of the ethanolic extract obtained from palmella cells. The accumulation of astaxanthin as a result of culture exposure to the excessive illumination stabilized antioxidant values at a high level.

In conclusion, both methods used to estimate the antioxidant activity of *Haematococcus pluvialis* algal extracts during its life cycle were informative.

SCREENING OF CULTIVATION MEDIA FOR LDPE BIODEGRADATION BY *PENICILLIUM VERRUCOSUM* CNM-FP-02

https://doi.org/10.52757/imb21.045

Postolachi Olga, Rastimesina Inna, Josan Valentina, Mamaliga Vera, Cotoman Alina
Institute of Microbiology and Biotechnology, the Republic of Moldova
email: oleseap@yahoo.com

Low-density polyethylene (LDPE) is a major cause of persistent and long-term environmental pollution, due to its resistance to degradation. The polyethylene can be degraded in various methods: chemical degradation, thermal degradation, photo degradation and biological degradation. The use of microorganisms in plastic biodegradation is based on their ability to produce extracellular enzymes, which cleaves polymers into low-molecular weight fragments. These fragments are used by microbes as a source of carbon and energy.

For the screening of microorganisms capable of degrading polyethylene different mineral salt media (MSM) have been reported in the scientific literature (Bonhomme 2003; Koutny, 2006; Jamil, 2015; Nakei, 2019). Thus, the aim of our research was to select the optimal mineral medium for LDPE biodegradation by the strain *Penicillium verrucosum* CNM-FP-02.

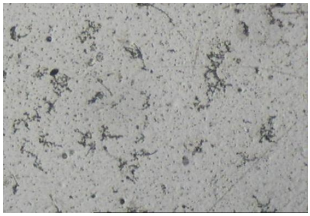
It was selected 5 mineral media, which differed in salt content and N/P ratio. Each medium had 2 experimental variants – with and without LDPE (60 μm). After 40 days of submerged cultivation, the following parameters were determined: catalase activity and pH of cultural media, quantity of accumulated biomass, mass and rate of LDPE degradation, optical microscopy.

It was observed that catalase activity on all media, except MSM 4, was higher in the presence of LDPE. On MSM 4 the catalase test was negative in both experimental variants. The pH index in the presence of LDPE became less acidic by 0.1 units in all media except MSM 5, where the pH became more acidic by 0.2 units.

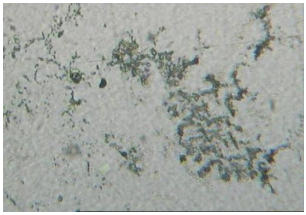
It was established that addition of polyethylene to the growth media (4 of 5 tested) stimulated the fungal biomass accumulation by 19.3-93.1%. A significant increase was noted on MSM 2 (by 92.7%) and MSM 3 (by 93.1%). The addition of LDPE to MSM 3 had an opposed effect, decreased the fungal biomass accumulation by 29.3%.

The degradation of LDPE films was determined gravimetrically, by weighing the films before and after incubation. On MSM 3, 4 and 5, the LDPE degradation made up 0.41-0.49%, on MSM 1 – 0.56%, and on MSM 2 – 0.92%. The study of LDPE films under an optical microscope revealed that after the contact with the fungal cells, both the immobilization of the microorganism and the damage on the polyethylene surface occurred.

Thus, under the experimental conditions, the MSM 2 medium, where the N/P ratio was 1:1, proved to be optimal to stimulate the biodegradation of LDPE by the strain *P. verrucosum* CNM-FP-02.



Immobilization of fungal hyphae on the surface of polyethylene



Traces of damage on the surface of polyethylene

This work has been realized with the support of State Program Project 20.80009.7007 (2020-2023).

INFLUENȚA POLIETILENEI CU DENSITATE SCĂZUTĂ ASUPRA PRODUCTIVITĂȚII ȘI FORMĂRII NODOZITĂȚIILOR LA PLANTELE DE MĂZĂRICHE

https://doi.org/10.52757/imb21.046

Prisacari Svetlana, Corcimaru Serghei, Todiraș Vasile
Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Republica Moldova
prisacarisvetlana@rambler.ru

În majoritatea țărilor, cât și în Republica Moldova, persistă problema poluării mediului ambiant cu produse de plastic, inclusiv cu polietilenă de densitate joasă (LDPE). Consecințele negative ale poluării solului cu plastic impun necesitatea elaborării măsurilor de remediere. Din lipsa metodelor chimice și fizice de distrugere eficientă a poluantelor din sol, în ultimul timp atenția este îndreptată spre elaborarea procedeelor de degradare biologică, inclusiv cu aplicarea fitoremedierii. În același timp, în prezent potențialul fitoremedierii este foarte puțin studiat în cazurile poluării solului cu LDPE.

Scopul acestor studii a fost de a evalua potențialul de fitoremediere al plantei leguminoase măzăriche prin studierea impactului LDPE asupra productivității sale și asupra capacității de a forma complexul rizobio-radicular.

Conform rezultatelor obținute, comparativ cu martorul absolut introducerea LDPE în sol în concentrații 1 și 5 g/kg a produs o creștere a lungimii medie a rădăcinilor plantei cu 20,5-48,7%, a înălțimii părții aeriene – cu 12,1-15, 7%, și a masei uscate a plantelor – cu 39,8-66,3% (în variantele cu LDPE semințele măzărichii înainte de introducere în sol au fost bacterizate cu tulpina *Rhizobium leguminosarum K2*). De asemenea, în varianta cu LDPE numărul de nodozități pe rădăcinile plantelor s-a majorat de 2,4-2,8 ori față de martorul absolut și cu 37,5-59,4% față de varianta unde semințele bacterizate cu *Rhizobium leguminosarum K2* au fost crescute în solul netratat cu LDPE.

Deși modificările observate nu au fost întotdeauna semnificative statistic, ele oferă motive suficiente pentru a concluziona că introducerea LDPE în sol nu numai că nu a avut efecte toxice asupra plantei și asupra simbiozei acesteia cu *Rhizobium leguminosarum K2*, dar a avut și consecințe pozitive. În primul rând, se atrage atenția asupra creșterii semnificative a numărului nodozităților pe rădăcini. Formarea complexului rizobio-radicular este important pentru dezvoltarea leguminoaselor. În nodozități se petrece fixarea endosimbiotică a azotului atmosferic, care este apoi transferat în plantă, stimulând creșterea și dezvoltarea acesteia. Prin urmare, este foarte posibil ca anume acest factor a predeterminat sporirea maximă și veridică a indicatorilor masei uscate și înălțimii plantelor în variantele cu LDPE. Se știe că fixarea simbiotică a azotului, pe lângă beneficiile pentru plante, contribuie și la îmbogățirea solului cu compuși de azot – până la 90-180 kg/h/an. În același timp, solul se îmbogățește cu substanțe organice ușor accesibile (datorită stimulării exudatelor radiculari și creșterii volumului reziduurilor de plante care nimeresc în sol). Toate acestea nu pot decât să stimuleze activitatea biologică generală a solului (în special cea microbiologică), care, la rândul său, contribuie la o distrugere mai activă a poluanților din sol și la îmbunătățirea calității/fertilității solului. Nu întâmplător, stimularea activității biologice a solurilor contaminate este unul dintre cele mai importante elemente și criterii de remediere efectivă a acestora. Pe lângă faptul că în variantele cu LDPE a fost posibilă o simbioză activă rizobio-radiculară, a fost de asemenea interesant că, după indicatorii importanți, precum masa uscată a plantelor și numărul de nodozități pe rădăcini, efectul stimulator (față de martorul absolut) a fost mai mare anume în varianta cu concentrația maximă a LDPE. Pe de o parte, acest fenomen prezintă un argument suplimentar în favoarea concluziei că efectele pozitive observate au fost cauzate tocmai de prezența în sol a LDPE. Pe de altă parte, el demonstrează capacitatea neobișnuită a măzărichii de a crește activ în solul cu un nivel relativ ridicat de LDPE.

Astfel, rezultatele obținute indică posibilitatea utilizării măzărichii în calitate de fitoremediant pentru soluri poluate cu LDPE, precum și importanța unor cercetări suplimentare cu scopul implementării practice a potențialului dezvăluit.

Rezultatele au fost obținute în cadrul proiectului 20.80009.7007.03, finanțat de ANCD.

SCREENING OF LOW DENSITY POLYETHYLENE DEGRADING FUNGI

https://doi.org/10.52757/imb21.047

Rastimesina Inna, Postolachi Olga, Josan Valentina, Cotoman Alina, Mamaliga Vera
Institute of Microbiology and Biotechnology, the Republic of Moldova
email: rastimesina@gmail.com

Polyethylene, the most common plastic, is highly recalcitrant and inert synthetic material, and very difficult to degrade in the environment. The natural degradation of low density polyethylene (LDPE, PE-LD) depends on polymer properties, such as water insolubility, the hydrophobicity, degree of crystallinity, and molecular weight, and a number of various environmental factor including temperature, air humidity, moisture content, pH, solar energy. In the process of biodegradation, microorganisms influence the destruction of synthetic polymers by secreting extracellular enzymes and free radicals able to cleave polymer into oligomers, dimers and monomers. One of the most reliable approaches to achieve polyethylene degradation is selection of microorganisms using the polymer as sole carbon source.

The microorganisms isolated previously in the laboratory of Soil Microbiology and stored in the National Collection of Non-Pathogenic Microorganisms (CNMN) were selected according to their capacity to grow and accumulate biomass in the presence of LDPE. There were tested 19 fungal strains: 7 representatives of the genus *Penicillium spp.*, 8 – *Aspergillus spp.*, 2 – *Fusarium spp.*, *Rhizopus arrhizus*, and *Cladosporum cladosporioides*.

For submerged cultivation, a mineral salt medium (MSM) was selected, 0.1% glucose was added to the medium as a growth inducer. The LDPE film was added to the culture medium in the form of 2 × 2 cm squares, 3 pieces per 100 ml medium. Cultivation was performed under conditions of continuous stirring, on a stirrer 180-200 rpm, at a temperature of 28°C. After 40 days of submerged cultivation, the amount of microbial biomass (BM) and LDPE destruction was determined by the gravimetric method.

The micromycetes that most actively produce BM in the presence of polyethylene were determined: *Aspergillus flavus*, *Penicillium vermiculatum*, *P. verrucosum* CNM-FP-02, *Fusarium sp.* 110 and *F. gibbosum* CNMN-FF-01 – 0.89-1.04 g/l. The grade of LDPE destruction in general was insignificant and had not exceeded 0.25-0.26%. The optical microscopy showed the immobilization of microorganisms on the surface of the plastic films and traces of damage on the surface of polyethylene from the contact with microbial cells.

The ability of microorganisms to grow in the presence of LDPE was studied on solid medium Czapek's Agar with glucose. Cultivation was performed in a thermostat at t = 28°C for 30 days. Surface cultivation of *Penicillium* spp. with polyethylene enhanced the biodegradation of LDPE up to 4.98% on the average. *Penicillium corylophilum* CNMN-FP-04 was noted as the most active destructor, the dry weight of LDPE decreased by 6.06%. The average grade of LDPE destruction caused by members of genus *Aspergillus* was 0.69%. The direct contact between microbial cells and surface of polyethylene films increased the grade of biodegradation up to 1.03% for *Aspergillus alliaceus* CNM-FA-01 and 1.41% for *Aspergillus wentii* correspondingly.

Visual observations and optical microscopy revealed the active growth of microorganisms on the surface and beneath the polyethylene films.

This work has been realized with the support of State Program Project 20.80009.7007.03 (2020-2023).

MICROBIOLOGICAL MECHANISMS OF THE REMOVAL OF ORGANIC POLLUTANTS FROM AQUEOUS SOLUTIONS

https://doi.org/10.52757/imb21.048

Roşca Mihaela [1,2], Hlihor Raluca-Maria [1], Cozma Petronela [1,2], Filote Cătălina [1,2], Simion Isabela-Maria [1], Apostol Maria [1], Gavrilescu Maria [2,3]

[1] *"Ion Ionescu de la Brad" University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Iasi, Faculty of Horticulture, Department of Horticultural Technologies, 3 Mihail Sadoveanu Alley, 700490 Iasi, Romania*

[2] *"Gheorghe Asachi" Technical University of Iasi, "Cristofor Simionescu" Faculty of Chemical Engineering and Environmental Protection, Department of Environmental Engineering and Management, 73 Prof. D. Mangeron Blvd., 700050 Iasi, Romania*

[3] *Academy of Romanian Scientists, 3 Ilfov Street, 050094 Bucharest, Romania*

e-mail: mihaelarosca@uaiasi.ro , raluca.hlihor@uaiasi.ro

A wide variety of organic pollutants from industrial and human activities are discharged daily into surface water sources. Both in low and high concentrations they may pose negative impacts on aquatic ecosystems. Among the multitude of organic pollutants released, the emerging and persistent organic pollutants are among the most harmful for the environment and human health. In this framework, the scope of our work was to provide an up-to-date scientific literature review on: (i) the selection of the microorganisms able to remove the organic pollutants, (ii) the mechanisms by which these pollutants are removed, (iii) the efficiency of the removal process. The microorganisms can use the organic pollutants as a source of carbon and energy for their growth and metabolism, thus facilitating the conversion and/or mineralization of organic pollutants into less toxic substances. The secretion of oxidoreductases, laccases, hydrolases, peroxidases, phosphatase, esterase, oxygenase, dehalogenases, transferases and other enzymes by microorganisms can enhance the rate of degradation reactions by lowering the activation energy of the molecules. For example, by secretion of biphenyl dioxygenase (BphA), dihydrodiol dehydrogenase (BphB), 2,3-dihydroxybiphenyl dioxygenase (BphC) and 2-hydroxyl-6-oxo-6-phenylhexa-2,4-dienoic acid hydrolase (BphD) the microorganisms such as *Pseudomonas sp.*, *Shigella sp.*, *Subtercola sp.*, *Chitinophaga sp.*, *Janthinobacterium* sp., *Trametes versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium* or *Lentinus edodes* are able to transform the PCBs into chlorobenzoates and 2-hydroxypenta-2,4-dienoate which are less toxic, and they do it with an efficiency higher than 30% for concentrations above 600 mg/L. *Bacillus cereus*, *Enterobacter ludwigii* and *Enterobacter* sp. were reported to be able to degrade the amoxicillin and sulfamide antibiotics. *Aspergillus niger*, *Pseudomonas* sp., *Labrys portucalensis*, *Rhodococcus rhodochrous* had the potential to degrade carbamazepine. *Azospirillium barasilense*, *Azotobacter chroococcum*, *Klebsilense pneumoneae*, *Pseudomonas cepacian* were able to degrade dicofol - an organochlorine pesticide. It can be concluded that the efficiency of the removal of the organic pollutants by microorganisms depends on the organic compound type, its concentration in the aqueous solutions, the microorganism species. Different studies showed that microorganisms had a specific selectivity in the biodegradation of emerging and persistent organic pollutants.

***Key words*:** enzymatic biodegradation, microorganisms, organic pollutants.

Acknowledgements: This work was supported by a grant of the Romanian Ministry of Education and Innovation, CNCS - UEFISCDI, project number PN-III-P2-2.1-PED-2019-2430, Contract no. 439/2020, within PNCDI III, and a grant of the Romanian Ministry of Education and Research, CCCDI—UEFISCDI, project number PN-III-P2-2.1-PED-2019-5239, Contract no. 269PED/2020, within PNCDI III.

INFLUENŢA POLUANŢILOR EXTERNI ASUPRA FUNCŢIONĂRII SISTEMULUI REPRODUCTIV

https://doi.org/10.52757/imb21.049

Roşca Nicolae, Balan Ion, Buzan Vladimir, Cazacov Iulia, Balacci Sergiu, Blîndu Irina, Creţu Roman, Fiodorov Nicolae
Institutul de Fiziologie şi Sanocreatologie, Republica Moldova
e-mail: nicolaerosca27@gmail.com

Actualmente sănătatea reproductivă este una din principalele verigi pentru a obţine descendenţi sănătoşi, valorificarea resurselor genetice ş.a., dar nu în ultimul rând pentru păstrarea şi conservarea biodiversităţii. Totodată, cu dezvoltarea intensivă a industriei grele şi nu numai, din diferite motive are loc poluarea mediului ambiant. Este necesar de menţionat, că în rezultatul acestor activităţi mediul ambiant este poluat cu metale grele, substanţe organo-clorurate, substanţe neorganice şi multe alte deşeuri, care rezultă din prelucrarea diferitor materii prime. Toate aceste substanţe nimerind în organismele vietăţilor prin diferite căi de acces au o influenţă negativă asupra sistemului reproductiv şi a organismului în întregime. Acumularea lor în organism poate regenera formarea speciilor reactive de oxigen şi dezvoltarea în exces a radicalilor liberi, care prin diferite mecanisme pot influenţa negativ nu numai sistemul reproductiv, dar şi celelalte sisteme, dereglând homeostazia organismului.

Analiza literaturii de specialitate demonstrează, că poluarea cu metale grele a mediului ambiant poate influenţa calitatea şi cantitatea materialului reproductiv. Influenţa negativă asupra organismului a metalelor grele şi, îndeosebi, a cadmiului care este cel mai răspândit metal, se manifestă prin deteriorarea structurilor biologice a citoscheletului, dereglarea mecanismelor metabolice la nivel de membrană cu dereglări funcţionale în testicule. Testiculele sunt cele mai sensibile la influenţa cadmiului, care duce la dezvoltarea proceselor inflamatorii, provoacă dereglări în bariera hematotesticulară, posedă efect citostatic asupra celulelor Sertoli şi Leydig. Metalele grele induc generarea formelor active de oxigen prin mecanisme indirecte, precum ar fi legarea lor cu grupele sulfhidrice proteice şi cu antioxidanţii cu greutate moleculară mică ca glutationperoxidaza (GSH), schimbând astfel activitatea lor reglatorie. Un alt mecanism constă în interferenţa cu ionii esenţiali, care sunt necesari pentru funcţionarea sistemelor antioxidante, ceea ce provoacă istovirea sistemului glutation din cauza formării speciilor reactive de oxigen cu o viteză mai mare decât capacitatea de a regenera forma redusă a glutationului. Ambele mecanisme provoacă formarea speciilor reactive de oxigen, aşa cum ar fi anionul superoxid, peroxidul de hidrogen şi radicalii hidroxilici. Stresul oxidativ poate fi provocat şi de interferența cadmiului cu seleniului și dereglarea funcționalității sistemului antioxidant glutationperoxidaza.

Metalele grele în calitate de factor poluant, prin diferite mecanisme, pot elimina Zn şi Cu din fermenţii cu activitate antioxidantă, ceea ce duce la schimbări conformaţionale şi inactivarea lor. Totodată, cuprul, posedând variabilitate a valenţei, singur poate induce formarea radicalilor liberi.

Prin urmare, metalele grele induc stresul oxidativ care, prin oxidarea excesivă a lipidelor, proteinelor, blocarea a unei multitudini de micro- şi macroelemente, parte din componenţa fermenţilor cu o activitate antioxidantă sporită, pot deregla metabolismul transmembranar şi celular şi ca consecinţă pot conduce la moartea celulelor, organelor şi sistemelor.

Acest studiu necesită investigații complexe de stabilire a mecanismelor inducerii proceselor de deteriorare a organelor și sistemelor biologice din organismele vii, de identificarea a metodelor şi procedeelor de preîntâmpinare a disfuncțiilor toxice metabolice la nivel de membrană celulară şi celulă integrală, elaborarea unor remedii antioxidante de provenienţă vegetală sau sintetică. Sunt necesare programe și proiecte la nivel național de elaborare a mecanismelor de identificare și monitorizare a factorilor poluanți ai mediului ambiant.

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SPIRULINA BIOMASS UPON THE ACTION OF COPPER NANOPARTICLES COATED WITH POLYETHYLENE GLYCOL

https://doi.org/10.52757/imb21.050

Rotari Ion
Institute of Microbiology and Biotechnology, the Republic of Moldova
e-mail: ioninhopld@gmail.com

Cianobacterium *Arthrospira platensis* (spirulina) is unanimously considered a complex and valuable non-conventional source of an *interesting* array *of* biologically active compounds. High-value compounds from this organism have been put to assorted uses as cosmeceuticals, nutraceuticals, and as functional foods. From the technological point of view, it presents advantages due to low nutritional demand, low cost of compound extraction and dry biomass. Spirulina has a high adaptability and can be cultivated in various nutrient conditions. The use of various chemical compounds, and more recently nanoparticles, either in the composition of cultivation media or administered at different growth stages of spirulina culture, can induce changes in both productivity and the content of functional components of biomass. During the metabolism of compounds, the antioxidant activity of the biomass also changes, which is due to the formation and/or annihilation of free radicals.

Changes in the antioxidant activity of spirulina biomass (ethanolic and hydric extracts), cultivated in the presence of 5 nm Cu nanoparticles with polyethylene glycol (PEG) coating, have been established, supplemented to culture medium in concentration range from 0.05 µM to 2.5 µM. Antioxidant activity was determined on the basis of the reduction of the radical cation $ABTS^{\bullet+}$ (2,2′-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid). ABTS assay revealed the antioxidant activity of ethanol extracts in the range of about 9 - 11% in the case of low doses of copper nanoparticles (Figure 1).

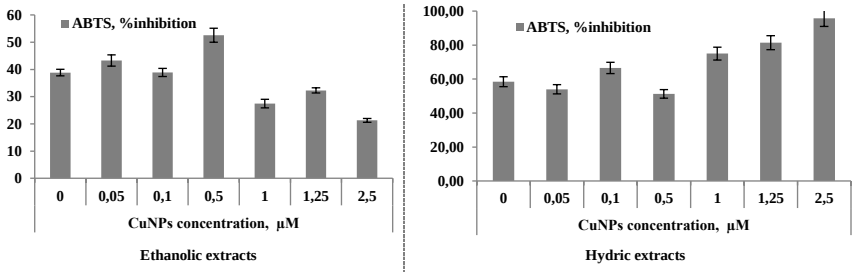


Fig. 1. Antioxidant activity (ABTS, % inhibition) of ethanolic and hydric extracts obtained from spirulina biomass, grown in the presence of CuNPs with polyethylene glycol coating.

Applying high concentrations (1.0 - 2.5 µM), the antioxidant activity of ethanolic extracts decreased by about 16 - 45%. In the case of hydric extracts, low concentrations (0.05 - 0.5 µM) did not significantly alter antioxidant activity, with the exception of 0.1 µM concentration, ABTS test values increased with 14%. High concentrations (1.0 - 2.5 µM) induced an increase of about 29-63% in the antioxidant activity values.

The data generated in this study can serve as background for further selection of nanoparticle concentrations based on the dynamics of the antioxidant capacity of biomass and/or each type of extract – criteria that will be taken into account when including polyethylene glycol - coated nanoparticles in the technological schemes intended to obtain raw materials of bionanoparticles and functional compounds from spirulina.

THE AGE OF *ARTHROSPIRA PLATENSIS* CULTURE AS DETERMINANT FACTOR RELATING TO NANOPARTICLES

https://doi.org/10.52757/imb21.051

Rudi L., Chiriac T., Cepoi L., Rotari I., Valuta A., Rotari M., Tasca I., Rudic V.
Institute of Microbiology and Biotechnology, the Republic of Moldova
e-mail: rudiludmila@gmail.com

A study was conducted to determine the effect of silver nanoparticles (AgNPs) on the growth and productivity of cyanobacterium *Arthrospira platensis* (spirulina) in dependence on the age of culture. Polyethylene glycol (PEG)-coated AgNPs of around 5 nm were applied to spirulina nutrient medium in the concentration range of 1.0 - 20.0 µM on the first day of cultivation, on day 3 corresponding to the beginning of the exponential growth phase, and on day 5 corresponding to the stationary phase. The amount of spirulina biomass produced for each experimental variant has been established (Figure 1).

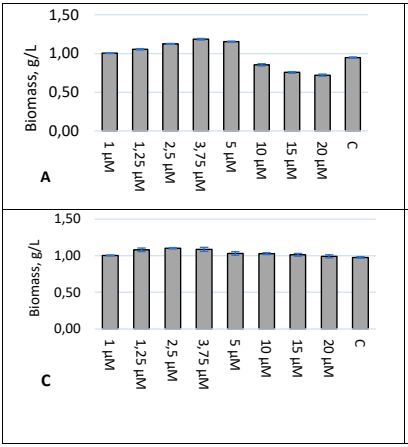


Fig. 1**.** Productivity of spirulina biomass with adding PEG - AgNPs into culture medium in the concentration range of 1.0 to 20.0 µM on the first day of cultivation **(A)**; on the 3rd day of cultivation **(B)**; on the 5th day of cultivation **(C)**.

Experimental variants, which were grouped by culture age, highlighted the specific response of spirulina to the concentrations of supplemented nanoparticles. Concentrations in the range of 2.5 to 5.0 µM, applied on the first day of cultivation, enhanced biomass production of more than 20 % (Figure 1A). Addition of AgNPs in concentrations of 15 - 20 µM reduced biomass production by 20 - 24%, which revealed the inhibitory or toxic effect of used concentrations. Concentration range of 2.5 - 5.0 µM AgNPs, applied when culture was at the end of the latent phase/the beginning of the exponential growth phase (Figure 1B), also stimulated biomass production by 18 - 24%. Applying doses of 15 - 20 µM AgNPs, no decrease in the amount of biomass was observed. In this case, the age of the culture was a determining factor in the response of spirulina to the presence of AgNPs. Hence, the introduction of AgNPs on the 3rd day of cultivation in concentration range of 1.0 - 20.0 µM did not change biomass productivity, the general trend being towards reduction. Supplementing the cultivation medium with AgNPs on the 5th day of cultivation (the end of the exponential phase), spirulina growth was minimal and the biosynthetic activity of culture lost its intensity (Figure 1C). Concentrations of 1.0 - 20.0 µM did not change the biomass content, the general trend being towards reduction.

The scientific results were obtained within the project 20.80009.5007.05 „Biofunctionalized metal nanoparticles - obtaining using cyanobacteria and microalgae", funded by National Agency for Research and Development (NARD), Republic of Moldova.

CHANGES IN MALONDIALDEHYDE CONTENT IN *SPIRULINA* BIOMASS IN THE PRESENCE OF GOLD NANOPARTICLES

https://doi.org/10.52757/imb21.052

Rudi L., Cepoi L., Chiriac T., Rotari I., Cepoi A., Djur S., Miscu V., Valuta A, Dumbraveanu V., Tasca V.
Institute of Microbiology and Biotechnology, the Republic of Moldova
e-mail: rudiludmila@gmail.com

Spirulina was grown in the presence of *p*olyethylene glycol-coated gold nanoparticles 5 nm diameter that were supplemented to cultivation medium in concentration range from 1.0 to 20.0 μM. Therefore, we conducted a life cycle assessment in the presence of *g*old nanoparticles (AuNPs), in particular applied on the first day of cultivation, on the 3rd day, corresponding to the beginning of the exponential growth phase, and on the 5th day, which refers to the stationary growth phase. The involvement of gold nanoparticles in the biosynthetic activity of spirulina was accompanied by the accumulation of free radicals, the presence of which was demonstrated on the basis of the amount of malondialdehyde (MDA) as a final product of lipid peroxidation (Figure 1).

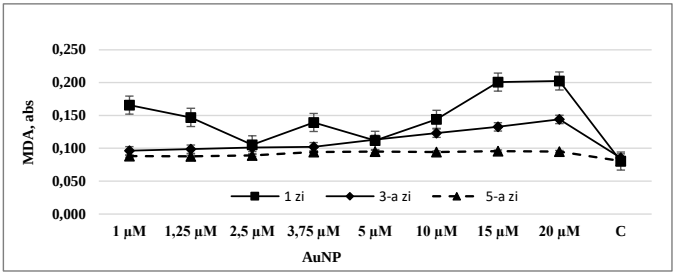


Fig. 1. MDA content (abs) in spirulina biomass by introducing AuNPs into culture medium on the first day of cultivation, on the 3rd day of cultivation, and on the 5th day of cultivation.

In the experimental variant with the introduction of Au nanoparticles on the first day of cultivation, measurement of MDA contents showed a nonlinear trend, the correlation with AuNPs concentrations being strong, r=0.731. The MDA content in spirulina biomass doubled after exposure to nanoparticles compared to control values. Adding concentrations of 15 - 20 μM AuNPs generated an increase in MDA content of more than 150%. The oxidative degradation of lipids led to cellular overproduction of reactive oxygen species as a result of excessive activity of Au nanoparticles.

In the experimental variant with the introduction of AuNPs on the 3rd day of cultivation, MDA content increased by 45 - 70% in samples with 10 - 20 μM AuNPs, the correlation being strong linear, r=0.868. The MDA values determined in the culture supplemented with AuNPs on the 3rd day of cultivation were lower compared to the values obtained with the addition of nanoparticles on the first day of the cultivation cycle. In the experimental variant with the introduction of nanoparticles on the 5th day of cultivation, changes in MDA content showed a nonlinear trend. *No* significant change in MDA content (a slight increase by 18 %) was observed in spirulina biomass under all applied concentrations of nanoparticles. During the stationary growth phase, the biosynthetic activity of spirulina was reduced, which did not favor the involvement of nanoparticles in this process.

The scientific results were obtained within the project 20.80009.5007.05 „Biofunctionalized metal nanoparticles - obtaining using cyanobacteria and microalgae", funded by National Agency for Research and Development (NARD), Republic of Moldova.

BIOACTIVE COORDINATIVE COMPOUNDS ACTION ON THE CARBOHYDRATE METABOLISM INDICES IN ANIMALS UNDER PHYSIOLOGICAL CONDITIONS

https://doi.org/10.52757/imb21.053

Sardari Veronica, Pantea Valeriana, Cristina Popușoi, Gulea Aurelian, Gudumac Valentin
State University of Medicine and Pharmacy Nicolae Testemitanu,
Chisinau, the Republic of Moldova
veronica.sardari@usmf.md

The research on the directed synthesis of the nonplatin metals coordinative compounds with macrocyclic and chelants ligands based on halogensemicarbazides presents much interest. These investigations permitted obtaining new nonplatin metal compounds with polydentate macrocyclic and chelants ligands assembled as a result of the condensation of the thiosemicarbaside with aldehydes and ketones [Brevet de invenție MD Nr. 3890, Gulea A., 2008], but their biochemical mechanisms of action are not known in detail. Based on these considerations, the aim of the research was to study the peculiarities of the influence of the new non-platinum metal coordinative compounds (CC) with chelation and macrolydic ligands – CMA-18, CMA-34, CMD-8, CMG-41, CMJ-33, CMT-67, MG-22, TIA-123, TIA-160 on the carbohydrate metabolism indices in the blood serum of the experimental animals under physiological conditions.

The biological activity of the CC was evaluated in experiments including a group of 50 male rats Wistar line, randomly divided into 10 groups. The first group – control (sham), was injected i/m with the saline solution daily for 30 days. The experimental animals from groups 2-10 were administered subcutaneously the studied CC three times a week for 30 days: group 2 – CMA-18 (100 nM/kg), group 3 – CMA-34 (1000 nM/kg), group 4 – CMD-8 (100 nM/kg), group 5 – CMG-41 (100 nM/kg), group 6 – CMJ-33 (100 nM/kg), group 7 – CMT-67 (1000 nM/kg), group 8 – MG-22 (100 nM/kg), group 9 – TIA-123 (100 nM/kg) and group 10 – TIA-160 (100 nM/kg). The carbohydrate metabolism indices – the activity of lactate dehydrogenase, isomer L (LDH-L), the amount of glucose and lactate were determined.

The study revealed that the amount of glucose was basically maintained at the normal levels by CMG -41, MG-22, TIA-123, TIA-160, decreased statistically significantly by 10%-15% under the influence of compounds CMA-18, CMJ-33, CMT-67, CMA-34 and CMD-8, which, probably, indicated an intense use of glucose of the studied CC in the glycolysis process. At the same time, the studied CC induced a discrete decrease tendency of LDH-L activity, except for CMJ-33 which maintained its enzyme activity at the level of intact animals and for CMG-41 which increased inconclusively by 15% compared to the control group. LDH-L represents a glycolysis enzyme, which catalyses the conversion of lactate into pyruvate with its inclusion in the aerobic glycolysis, and it was diminished insignificantly by the majotitity of the investigated compounds. The tested CC did not influence conclusively the levels of lactate, except for CMA-18, CMG-41 and CMD-8, that produced a 17-31% veritable statistical increase of the lactate, indicating the anaerobic glycolysis stimulation by these compounds.

Conclusions: The influence of the tested CC on the studied indices of the carbohydrate metabolism was selective. This selectivity can be explained by their particularly strong antiproliferative and cytotoxic action upon the tumor cells, but not on the healthy one.

Key words: Coordination compounds, carbohydrate metabolism, glycolysis, antiproliferative, cytotoxic action.

This study was supported by the State Program (2020-2023) of the Republic of Moldova (research grant No. 20.80009.5007.10).

RHODOCOCCUS WRATISLAVIENSIS G13 AS A PERSPECTIVE AGENT FOR A RANGE OF MICROBIAL PREPARATIONS FOR THE BIOREMEDIATION OF NATURAL AND INDUSTRIAL ENVIRONMENTS

https://doi.org/10.52757/imb21.054

Shavela Yuliya, Hlushen Alena, Chyrykava Marharyta
Institute of Microbiology, National Academy of Sciences, Belarus
e-mail: shavela97@mail.ru

The genus *Rhodococcus* comprises Gram-positive actinobacteria that are widely distributed in the environment, including in soil and water from tropical, desert and artic habitats. *Rhodococcus* have a high destructive potential against a wide range of aromatic, heterocyclic and aliphatic xenobiotics, and are also producers of valuable secondary metabolites (surfactants, exopolysaccharides, enzymes) [1]. The strain *Rhodococcus wratislaviensis* G13 was isolated from oil sludge and added to the collection of microbial xenobiotic decomposers of the Laboratory of Environmental Biotechnology of the Institute of Microbiology, NAS of Belarus. In this study, we carried out an initial screening of the strain *R. wratislaviensis* G13 and studied its substrate specificity towards a wide range of aliphatic and aromatic organic compounds.

The bacteria *R. wratislawiensis* G13 was maintained on Meat-wort agar (5% meat-peptone broth, 25% filtered wort, 2,2% agar, pH 7,0) at 25-27°C for 48-72 h**.** Screening for destructive bacterial activity of *R. wratislaviensis* strain G13 was carried on M9 medium (Na_2HPO_4, 33.7 mM; KH_2PO_4, 22.0 mM; NaCl, 8.55 mM; NH_4Cl, 9.35 mM; $MgSO_4$, 1.0 mM; $CaCl_2$, 0.3 mM) [2] containing individual chemical compounds as the main source of carbon at a concentrations of 0.02%, 1% and 5%. The G13 strain was also inoculated on M9 control medium without pollutants, in order to exclude agarolytic cultures. The destructive activity of the strain was assessed after 7 days.

According to the results of the initial screening, we have shown the potential biodegradability of aliphatic organic compounds (propanol, butanol, acetone, ethyl acetate, butyl acetate at a concentration of 5%), benzene 5%, phenol 0.02%, oxyhydroquinone and catechol 1%, naphthalene and their derivatives (α-naphthol, naphthylamine, α-naphthyl acetate at a concentration of 1%) as well as complex organic solvents (solvent and Stoddard solvent at a concentration of 5%) by *R. wratislaviensis* G13.

In addition, this strain is an active producer of surfactants and exopolysaccharides, allowing it to withstand high concentrations of toxicants under various extreme environmental conditions. All this made it possible to include G13 strain into the «Rhodobel-TN» biosorption preparation intended for soil and water treatment from oil and products of its processing. It is worth noting that the range of activity conditions of this preparation is wide enough: pH 4-10 and temperature 3-45°C. The strain has high xerotolerance and heat resistance due to the production of exopolysaccharides, which have a protective function when the microbial cells are dried. This fact together with the powerful destructive potential of the strain to a wide range of xenobiotics became the basis for inclusion of *R. wratislaviensis* G13 in the dry preparative form of bioactivator «Antoil+C» intended for municipal wastewater treatment. Thus, a further detailed analysis of the characteristics of the *R. wratislaviensis* G13 strain will make it possible to substantiate in more detail its potential as a biodegradable agent in microbial preparations.

References:

1. Garrido-Sanz, D. Analysis of the biodegradative and adaptive potential of the novel polychlorinated biphenyl degrader *Rhodococcus* sp. WAY2 revealed by its complete genome sequence / D. Garrido-Sanz [et. al] //Microbial Genomics – 2020 – P. 1-20.
2. Subashchandrabose, S.R. Biodegradation of high-molecular weight PAHs by *Rhodococcus wratislaviensis* strain 9: Overexpression of amidohydrolase induced by pyrene and BaP / S.R. Subashchandrabose [et. al] // Sci. Total Environ. – 2019 – P. 9.

CHALLENGES AND OPPORTUNITIES OF USING MEDICINAL PLANTS IN PHYTOREMEDIATION

https://doi.org/10.52757/imb21.055

Simion Isabela-Maria[1], Hlihor Raluca Maria[1], Apostol Maria[1], Hagiu Zaleschi Laura[1], Asiminicesei Dana[1,2], Gavrilescu Maria[2,3]

[1]"Ion Ionescu de la Brad" University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Iasi, Faculty of Horticulture, Department of Horticultural Technologies, 3 Mihail Sadoveanu Alley, 700490 Iasi, Romania

[2]"Gheorghe Asachi" Technical University of Iasi, "Cristofor Simionescu" Faculty of Chemical Engineering and Environmental Protection, Department of Environmental Engineering and Management, 73 Prof. D. Mangeron Bd., 700050 Iasi, Romania

[3]Academy of Romanian Scientists, 3 Ilfov Street, 050044 Bucharest, Romania

e-mail: simion.i@uaiasi.ro; raluca.hlihor@uaiasi.ro

In the last years, we have noticed that the air is becoming harder to breathe, the soil lost its capacity of production, while water changed its colour and smell. This is a major consequence of environmental pollution of air, water and soil, with various contaminants that have an immediate or long-term effect. Heavy metals are among the most researched pollutants, due to their persistent nature in the environment, high abundance and non-biodegradable. Regarding the effects to human health, heavy metals can cause mutagenic effects, endocrine disruption and neurological disorders even in low concentrations. For an efficient, eco-friendly and low-cost removal of heavy metals, phytoremediation seems to be one of the most suitable and promising technologies.

The goal of this paper is to analyze the opportunities of using medicinal plants to remove heavy metals from the environment. Nowadays, even if medicinal plants have multiple uses, they firstly remain known for their use in traditional medicine, in industries such as food, pharmaceuticals, essential oils, cosmetics and even ornaments. Also, they play an important role for the environmental counterbalances to industrial and agriculture pollution. Studies showed that medicinal plants have different abilities in phytoremediation such as: 1) to remove, uptake or inactivate harmful environmental contaminants such as Cd, Ni, Pb, Cr; 2) to absorb elements from soil and water; etc.

The distribution of heavy metals on plants could be influenced by the anatomic and biologic peculiarities of the plants. It was identified that *Ocimum basilicum* was able to accumulate significant amounts of Cd, Pb and Zn in their roots, while *Lavandula spica* was able to uptake significant amounts of the same metals in their leaves. On the other side, it was observed that *Lavandula angustifolia* tended to accumulate metals mainly in its roots and stems. There are different hypothesis regarding the accumulation in leaves. An explanation could be the dispersion into the air by aerosols of heavy metals that fall onto the leaves. Another one could be that the uptake of heavy metals is mainly done by roots followed by the movement of the heavy metals through the conductive system to leaves. After long research, regarding the accumulation of heavy metals in medicinal plant, the result showed that it varies depending on the plant species and metal elements. Due to adaptation mechanisms of medicinal plants, they show a good capacity to survive under a highly polluted environment.

Acknowledgements: This work was supported by the Romanian Ministry of Education and Research, CNCS - UEFISCDI, project number PN-III-P1-1.1-TE-2019-1200 contract no. 120/2020 and a grant of the Romanian National Authority for Scientific Research, CNCS – UEFISCDI, project number PN-III-P2-2.1-PED-2019-5239, Contract no. 269PED/2020.

ACTIVITATEA ANTIFUNGICĂ A MICROMICETELOR DUPĂ LIOFILIZARE ȘI CONSERVARE ÎN PREZENȚA NANOPARTICULELOR

https://doi.org/10.52757/imb21.056

Sîrbu Tamara[1], Moldovan Cristina[1], Țurcan Olga[1], Timuș Ion[1], Gorincioi Viorina[2]
[1]Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Republica Moldova
[2]Institutul de Chimie, Republica Moldova
e-mail: tfsirbu@gmail.com

Cele mai des utilizate metode de conservare a microorganismelor sunt crioconservarea și liofilizarea. Există multe avantaje și dezavantaje ale acestor metode, dar liofilizarea este metoda universală aplicată în Colecțiile de microorganisme. Viabilitatea și stabilitatea microorganismelor liofilizate depinde atât de mediul de protecție utilizat, cât și de particularitățile taxonomice ale tulpinilor luate în studiu. Mediile protectoare în componența cărora intră laptele degresat și/sau zaharoza au fost selectate ca fiind optime procesului liofilizării pentru microorganismele depozitate în Colecția Națională de Microorganisme Nepatogene din Moldova (CNMN).

Numeroase cercetări demonstrează acțiunea nanoparticulelor asupra celulelor vii și eficacitatea utilizării lor în diverse domenii, care poate fi atât benefică, cât și toxică în dependență de compoziția chimică, mărimea și concentrația particulelor, precum și de particularitățile fiziologo-biochimice ale tulpinilor luate în studiu.

Scopul cercetărilor a constat în acțiunea nanoparticulelor (NP) Fe_2O_3 și Fe_2ZnO_4, utilizate în mediul de protecție, asupra activității antifungice a micromicetelor după liofilizare și păstrare.

În calitate de obiecte de studiu au fost utilizate 5 tulpini de fungi din genul *Trichoderma* și 6 tulpini din genul *Penicillium*, din CNMN. Tulpinile au fost liofilizate în mediul de protecție Lapte degresat + 7% glucoză (LD + 7%G) (varianta martor - M) și 2 variante: M + NP Fe_2O_3 și M + NP Fe_2ZnO_4 în concentrație de 5 mg/l. Nanoparticulele utilizate au avut diverse mărimi și forme. NP de Fe_2ZnO_4 au avut dimensiuni de 8–15 nm, iar NP de Fe_2CuO_4 - 20–50 nm, predominând particulele cu dimensiunile de 30-35 nm. Acestea au fost sisntetizate de către cercetătorii științifici de la I.P. Institutul de Chimie, cărora le mulțumim.

Pentru stabilirea acțiunii NP asupra propietăților biosintetice a culturilor de *Trichoderma* și *Penicillium* a fost determinată activitatea antifungică până la liofilizare și după 1 an de păstrare în stare liofilizată. Proprietățile antifungice au fost studiate conform metodei difuzimetrice, prin utilizarea blocurilor de geloză. În calitate de tulpini-test au fost folosiți fitopatogenii: *Aspergillus niger; Alternaria alternata, Botrytis cinerea, Fusarium solani, Fusarium oxysporum.*

Rezultatele obținute au demonstrat că, activitatea antifungică a tulpinilor de *Trichoderma* după liofilizare și păstrare în varianta martor este la nivelul de până la liofilizare sau puțin diminuat, iar în variantele cu NP zonele de inhibiție a fitopatogenilor sau modificat. Astfel, activitatea antifungică a exometaboliților tulpinilor din genul *Trichoderma*, liofilizate în medii de protecție LD +7% G și 5 mg/l NP de Fe_2O_3, a depășit varianta martor cu 4,17-24%. Zonele de inhibiție sub acțiunea exometaboliților culturilor de *Trichodermă*, obținuți în variantele cu NP de Fe_2ZnO_4, de asemenea depășesc varianta martor cu 3-24%. Totodată în ambele variante au fost înregistrate și diminuări nesemnificative (2-3%) față de varianta martor.

Activitatea antifungică a metaboliților tulpinilor din genul *Penicillium* după liofilizare și păstrare în prezența NP de asemenea s-a modificat. În variantele cu utilizarea NP de Fe_2O_3 cele mai semnificative valori au depășit martorul cu 11-18%. În cazul aplicării metaboliților obținuți în variantele cu NP de Fe_2ZnO_4 valorile maxime a activității antifungice față de unii fitopatogeni au depășit martorul cu 11,5-22,5%. În unele variante au fost înregistrate și diminuări nesemnificative de 3-5% față de unii fitopatogeni comparativ cu varianta martor.

Astfel, s-a demonstrat că NP de Fe_2O_3 și Fe_2ZnO_4, utilizare în mediul de protecție în calitate de lioprotectori, pot modifica activitatea antifungică a tulpinilor de micromicete din genul *Trichoderma* și *Penicillium* față de unii fitopatogeni. În majoritatea cazurilor contribuie la stimularea activității antifungice.

MEDIUL ACVATIC – SURSĂ DE MICROORGANISME DE INTERES BIOTEHNOLOGIC

https://doi.org/10.52757/imb21.057

Sîrbu Tamara, Moldovan Cristina, Țurcan Olga, Slanină Valerina, Batîr Ludmila
Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Republica Moldova
e-mail: tfsirbu@gmail.com

Ecosistemele acvatice sub formă de lacuri din diferite regiuni oferă resurse de apă de neînlocuit pentru oameni. Microbiomii ecosistemelor lacustre sunt resurse adecvate pentru agricultură, industrie și sectoare conexe. Microbii joacă un rol central în procesele ecologice globale și în biogeochimia Pământului, bacteriile fiind cea mai importantă componentă a comunităților microbiene responsabile în ecosistemele acvatice de procesele de mineralizare a materiei organice și de reciclare a nutrienților.

Micromicetele sunt o componentă permanentă a ecosistemelor acvatice. Un interes deosebit sunt speciile acvatice obligatorii, adică cele care nu numai că apar și se dezvoltă activ în apă, dar, cel mai important, nu se pot reproduce în afara mediului acvatic, dar sunt si micromicete migrante. Printre astfel de grupuri ecologice sunt incluse micromicetele terestre găsite în mări și ape dulci. Cunoașterea taxonomiei și ecologiei acestor micromicete permite determinarea și rolul lor în procesele de autopurificare a rezervoarelor, datorită prezenței puternice a sistemelor enzimatice.

Scopul cercetărilor a constat în studierea biodiversității microbiene din lacul „La izvor", municipiul Chișinău și izolarea tulpinilor de interes biotehnologic.

A fost studiată biodiversitatea microbiană a bazinului acvatic - lacul „La izvor" din mun. Chișinău. Probele au fost prelevate din apă, nămol și biofilm. Din probele prelevate au fost izolate grupele taxonomice de microorganisme: microalge, cianobacterii, bacterii, drojdii și micromicete. Pentru izolarea microorganismelor s-au folosit medii nutritive agarizate specifice fiecărui grup de microorganisme. Pentru izolarea microalgelor și cianobacteriilor au fost folosite 6 medii nutritive, bacteriilor - 6 medii, drojdiilor - 2 medii, micromicetelor - 6 medii.

În rezultatul cercetărilor au fost depistate și studiate 26 genuri de microalge și cianobacterii din filumul *Cyanophyta, Chlorophyta și Bacillariophyta.* Majoritatea tulpinilor (21) au fost izolate din apă, iar 5 genuri au fost izolate din biofilme. Din 213 tulpini de bacterii izolate din apă, nămol și biofilme, în rezultatul cercetărilor 148 tulpini s-au dovedit a fi patogene (reprezentanți ai genurilor: *Salmonella, Klebsiella, Stafilococcus, Shigella, Escherichia, Sarcina),* iar 65 tulpini (reprezentanți ai diferitor genuri *Bacillus, Pseudomonas, etc.)* nepatogene. Cantitativ, cele mai multe au fost izolate din apă (95 patogene, 25 nepatogene), apoi din nămol (32 patogene, 22 nepatogene) și biofilme (21 patogene, 18 nepatogene). De asemenea au fost izolate în cultură pură 7 tulpinii de drojdii, 3 din apă și 4 din nămol (reprezentanți ai genurilor *Sacharomyces, Schizosaccharomyces).*

Au fost izolate și studiate 247 tulpini de micromicete ce aparțin diferitor genuri. Cercetările efectuate au demonstrat că în toate probele de apă, nămol și biofilm predomină genurile *Aspergillus* și *Penicillium.* Într-un număr mai mic sunt reprezentanții genurilor *Trichoderma, Alternaria, Mucor, Rhizopus.* Cele mai multe tulpini depistate în apă sunt reprezentanți ai genului *Penicillium,* în probele de nămol și biofilm - reprezentanții genului *Aspergillus.* Multe dintre tulpinile depistate sunt fitopatogene, reprezentanți ai genurilor *Aspergillus, Alternaria, Fusarium.*

Toate tulpinile nepatogene au fost izolate în cultură pură și se păstrează în CNMN pentru cercetări ulterioare pentru selectarea potențialilor producători de substanțe bioactive.

Conform rezultatelor obținute putem concluziona că în lacul „La izvor", conveţuiesc diferite microorganisme (microalge, cianobacterii, bacterii, drojdii, micromicete), care pot fi o sursă de microorganisme de interes industial.

Cercetările au fost efectuate în cadrul proiectului 20.80009.7007.09 finanțat de ANCD.

LIOFILIZAREA - METODĂ SIGURĂ DE CONSERVARE A MICROORGANISMELOR DE INTERES BIOTEHNOLOGIC

https://doi.org/10.52757/imb21.058

Sîrbu Tamara, Moldovan Cristina, Ţurcan Olga
Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, Republica Moldova
e-mail: tfsirbu@gmail.com

Microorganismele sunt surse inepuizabile şi avantajoase de substanţe bioactive (antibiotice, vitamine, proteine, aditivi alimentari, enzime, acizi organici, biopreparate de uz agricol ş.a.), fapt pentru care sunt utilizate pe larg în biotehnologie. Funcţionarea durabilă a colecţiilor naţionale de microorganisme şi completarea lor permanentă, prezintă o necesitate principială pentru extinderea în continuare a biotehnologiilor în toate ţările industrial dezvoltate.

Metoda de depozitare a microorganismelor de interes industrial reprezintă o sarcină de importanţă majoră pentru orice colecţie. Condiţiile de conservare şi păstrare pot influenţa o serie de caracteristici ale microorganismelor, în special potenţialul bioproductiv al acestora. Aceasta şi necesită evaluarea periodică a viabilităţii şi stabilităţii microorganismelor de interes industrial.

Reieşind din cele menţionate scopul cercetărilor a constat în evaluarea viabilităţii tulpinilor de micromicete după 15 ani de păstrate în stare liofilizată.

În calitate de obiect de studiu au servit 35 tulpini de micromicete din diferite genuri, păstrate în CNMN în stare liofilizată (mediul de protecţie: lapte degresat +7% glucoză (LD+7%G) şi zaharoză 20% (Z 20%), timp de 15 ani. Pentru rehidratarea culturilor liofilizate a fost folosită apa distilată. Viabilitatea culturilor până şi după liofilizare **(**exprimate în unităţi formatoare de colonii UFC ml^{-1}**)** a fost determinată prin stabilirea numărului de colonii pe mediul agarizat malţ-agar pe cutiile Petri. După efectuarea diluţiilor succesive şi inocularea acestora pe mediu agarizat, s-a efectuat calculul unităţilor formatoare de colonii (UFC). Numărul de celule viabile a fost exprimat prin *log*10 a UFC în 1,0 ml de suspensie. Toate experienţele au fost efectuate în 3 repetări.

În rezultatul examinării vizuale şi la microscop a culturilor, luate în studiu, nu au fost înregistrate modificări semnificative a particularităţilor morfo-culturale.

Conform rezultatelor obţinute s-a constatat că, viabilitatea tulpinilor din genul *Aspergillus* după 15 ani de conservare în stare liofilizată constituie 71-87,2% comparativ cu viabilitatea iniţială stabilită imediat după liofilizare. Diferenţa viabilităţii culturilor în dependenţă de mediul de protecţie utilizat variază în limitele 2 - 14%.

La tulpinile ce aparţin genului *Penicillium* viabilitatea după 15 ani de păstrare în stare liofilizată a scăzut mai semnificativ şi variază de la 65,2 % până la 86,8 %. Comparând viabilitatea culturilor de *Penicillium* de aceiaşi specie (de exemplu *P. funiculosum* CNM FP 01 şi *P. funiculosum* CNMN FD 01; *P. viride* CNMN FD 04 şi *P. viride* CNMN FD 09) constatăm că viabilitatea lor variază, ceea ce demonstrează că fiecare tulpină suportă procesul de liofilizare diferit. De asemenea s-a înregistrat o viabilitate mai înaltă în varianta în care în calitate de mediu protector a fost utilizat LD + 7% G (cu 0,2-6,2% mai mult) comparativ cu mediul de protecţie Z 20%, iar la 3 tulpini viabilitatea în varianta cu zaharoză a fost puţin mărită faţă de varianta cu LD+7%G (cu 0,9-5,5%).

În cazul tulpinilor ce aparţin genului *Fusarium*, viabilitatea tulpinilor, obţinută după 15 ani de păstrare în stare liofilizată, este mai mică şi variază în limitele 54-70%. Comparând viabilitatea culturilor după mediul de protecţie utilizat la liofilizare, putem constata că, acesta a influenţat diferit asupra viabilităţii culturilor.

Astfel, putem concluziona că toate tulpinile conservate şi păstrate în CNMN timp de 15 ani în stare liofilizată sunt viabile şi îşi păstrează particularităţile morfoculturale, deci liofilizarea este o metodă sigură de conservare a microorganismelor de interes industrial.

Cercetările au fost efectuate în cadrul proiectului 20.80009.7007.09 finanţat de ANCD

IZOLAREA ŞI EVALUAREA DIVERSITĂŢII BACTERIILOR DIN APA LACURILOR PARCULUI „LA IZVOR”

https://doi.org/10.52757/imb21.059

Slanina Valerina, Balan (Batîr) Ludmila
Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, Republica Moldova
e-mail: *valerinaslanina@mail.ru*

Evaluarea biodiversităţii este primul pas în procesul de definire a obiectivelor de management a biodiversităţii şi a măsurilor de conservare a biodiversităţii pentru o anumită zonă. Scopul evaluării biodiversităţii este de a aduna, analiza şi evalua cele mai relevante informaţii pentru luarea deciziilor şi emiterea recomandărilor pentru viitor. Evaluarea biodiversităţii presupune inventarierea, studierea sau măsurarea a ceea ce există sau se cunoaşte într-o anumită zonă, determinarea valorilor ei şi identificarea celor mai importante elemente naturale şi/sau culturale.

În vederea conservării biodiversităţii se iau în considerare speciile cele mai importante care pot fi grupate după anumiţi indicatori deoarece biodiversitatea este importantă pentru om din mai multe puncte de vedere. Biodiversitatea joacă un rol esenţial în viețile noastre, doarece depindem de produsele (sub formă de alimente, lemn, medicamente etc.) şi serviciile (aer proaspăt, apă curată, protecţia resurselor de apă, formarea solului, etc.) pe care le oferă.

Conform cercetărilor iniţiate scopul nostru este cel de conservare şi valorificare a biodiversităţii microbiene în calitate de suport pentru dezvoltarea tehnologiilor şi agriculturii durabile. Astfel, în acest scop, a fost selectat studiul biodiversităţii din lacurile parcului „La Izvor” din mun. Chişinău, screening-ul tulpinilor de interes biotehnologic, determinarea proprietăţilor pe care le manifestă, conservarea şi depozitarea lor în cadrul (CNMN).

În calitate de obiect de studiu au servit tulpinile de bacterii izolate din apa a 3 lacuri mari din parcul „La Izvor”, care sunt unite între ele printr-un pod ce leagă lacul 1 de lacul 2, printr-un canal ce leagă lacul 2 de lacul 3 şi o scurgere a lacului 3 în r. Bîc. Astfel, probele au fost prelevate din zona plajei, stufului, insulei, izvorului, podului, zona r. Bîc şi a canalului.

În vederea izolării bacteriilor iniţial au fost utilizate următoarele medii de cultură: agar nutritiv, mediu peptonat din carne agarizat, King A şi King B. Însămânţarea s-a efectuat din diluţiile 10^{-5} şi 10^{-6}. Ulterior în vederea izolării şi identificării enterobacteriilor patogene au fost utilizate şi mediile de cultură: Kligler Iron Agar (**KIA**) (caracteristic pentru identificarea enterobacteriilor), **Endo** (caracteristic pentru identificarea tulpinii *Escherichia coli*) şi mediul **SS** (caracteristic pentru identificarea tulpinilor de *Salmonella* şi *Shigella*).

Din cele 11 variante de probe de apă din lacurile parcului „La Izvor” au fost izolaţi în cultură pură 122 colonii diferite după formă, mărime, culoare, etc. (35 din lacul 1: stuf – 11, plajă – 5, insulă – 11, pod – 8). În urma însămânţării izolaţilor daţi pe mediile caracteristice identificării enterobacteriilor patogene am constatat că 97 izolaţi au produs schimbări în mediul KIA, sau au avut creştere pe mediul Endo şi SS, ceea ce îi încadrează în familia *Enterobacteriaceae*.

Tulpinie izolate rămase în studiu, 25 la număr, au fost cutivate pe mediile agar nutritiv, King A şi King B în vederea caracterizării caracterelor morfo-culturale ale coloniilor, care pot fi mari sau mici, circulare sau neregulate, cu margine întreagă, ondulată, lobată sau dinţată, cu diferite profiluri, ca consistenţă în cea mai mare parte au fost determinate vîscoase sau granulare, diferite ca culoare de la albă până la roşietice, orange sau galbene, opace sau translucide, netede lucioase sau mate, în mare parte de tip „S” tipul „R” fiind doar la 6 tulpini.

În urma analizei caracterelor morfo-culturale a celulelor bacteriilor izolate din apa lacurilor parcului „La Izvor” putem constata că sunt atît de formă sferică (coci) – 4 tulpini, cât şi alungită (bacili) – 21 tupini. Bacilii au fost scurţi sau lungi, subţiri sau groşi, solitari sau în lanţuri cu sau fără flagel, cocii determinaţi au fost de la mici solitari la mari grupaţi în diplo- sau tetracoci. Conform coloraţiei Gram au fost determinate atât bacterii Gram+ cât şi Gram-.

Conform rezultatelor obţinute putem concluziona că, bacteriile studiate din lacul „La izvor” aparţin diferitor genuri reprezentate de diverse specii.

Cercetările au fost efectuate în cadrul proiectului 20.80009.7007.09., finanţat de ANCD.

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF A BACTERIUM FROM PETROLEUM SLUDGE

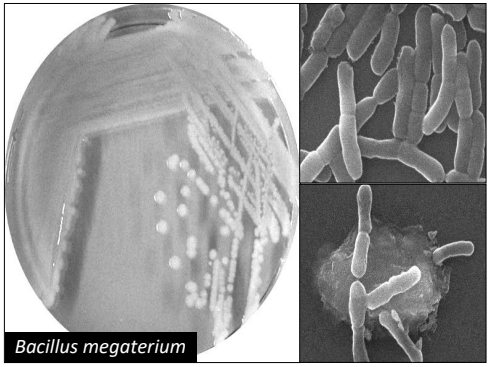
https://doi.org/10.52757/imb21.060

Stancu Mihaela Marilena

Institute of Biology Bucharest of Romanian Academy, 296 Splaiul Independentei, Bucharest 060031, P.O. Box 56-53, Romania

e-mail: mihaela.stancu@ibiol.ro

Petroleum industries are responsible for the generation of large quantities of oily sludge, which is a major source of soil pollution in many countries, including Romania. Petroleum sludge is a complex mixture containing emulsified petroleum hydrocarbons, water, heavy metals, and solid particles. A new bacterium, which possesses at least two catabolic genes in its genome, was isolated from a Romanian petroleum sludge sample. Based on their morphological, biochemical, and molecular characteristics, the isolated bacterium was identified as *Bacillus megaterium*. The isolated bacterium was able to grow in the presence of toxic hydrocarbons, such as *n*-hexadecane, *n*-decane, *n*-hexane, cyclohexane, ethylbenzene, styrene, and toluene with a broad range of logarithm of the partition coefficient of the hydrocarbon in *n*-octanol and water mixture (log P_{OW}). However, *n*-hexadecane, *n*-decane, and *n*-hexane with the higher log P_{OW} values (ranging from 9.15 to 3.86) were less toxic for *Bacillus megaterium* cells, compared with cyclohexane, ethylbenzene, styrene, and toluene, which has lower log P_{OW} values (ranging from 3.35 to 2.64). Modifications in the cell ultrastructure, protein, and lipid profiles were observed as the adaptive response when *Bacillus megaterium* cells were grown in the presence of these toxic hydrocarbons. *Bacillus megaterium* produced extracellular biosurfactants that could help the cells to survive in the presence of hydrocarbons and promote the cells' growth by reduction of surface tension and increasing the hydrocarbons uptake by their solubilization.



CAPACITATEA UNOR TULPINI DE *ARTHROSPIRA PLATENSIS* DE A SINTETIZA NANOPARTICULE DE SELENIU

https://doi.org/10.52757/imb21.061

Tașcă Ion
Institutul de Microbiologie și Biotechnologie, Republica Moldova
e-mail: tascaipetru@gmail.com

Nanoparticulele de seleniu (SeNP) sunt unele dintre cele mai intens studiate tipuri de nanoparticule cunoscute în prezent. Acestea au diverse beneficii terapeutice, inclusiv acțiune anticanceroasă, antioxidantă, antiinflamatoare și anti-diabetică. Activitatea anticancerigenă a nanoparticulelor de seleniu se datorează în mare măsură proprietăților sale prooxidante pe care acestea le realizează în celule canceroase, proprietăți ce declanșează producerea speciilor reactive de oxigen. Ca rezultat, în celulele canceroase are loc deteriorarea reticulului endoplasmatic și a mitocondriilor și la apoptoza acestora.

Cu toate că seleniul (Se) este un oligoelement necesar tuturor organismelor vii, atât deficitul, cât și excesul acestuia pot provoca multiple probleme și dereglări serioase. Cantitățile acestui element care pot provoca efecte toxice, care sunt diferite în dependență de specie și tipul de țesut, iar intervalul care include dozele terapeutice active, până la nivelul minim de toxicitate este, de obicei, foarte îngust. Pentru a depăși efectele adverse ale dozelor mari de Se, o modalitate posibilă este de a folosi acest element sub formă de nanoparticule. Cu toate acestea, SeNP sintetizate prin metode fizice și chimice prezintă, de asemenea, toxicitate. SeNP sintetizate biologic, datorită toxicității lor mai mici, sunt de perspectivă pentru aplicare în nanomedicină. Biosinteza nanoparticulelor de seleniu poate fi realizată cu utilizarea extractelor din plante și diferite bacterii. Printre cianobacterii de asemenea au fost identificate specii, care pot realiza cu succes procesul de biosinteză a SeNPs, de exemplu *Anabaena variabilis, Arthrospira indica, Gloeocapsa gelatinosa, Oscillatoria sp., Phormidium sp.*

Arthrospira platensis (spirulina) este una dintre cele mai cunoscute și intens studiate specii de cianobacterii, care este crescută în condiții industriale și care se aplică în diverse domenii ale economiei și medicinii. În acest studiu a fost testată capacitatea a trei tulpini de spirulină din Colecția Națională de Microorganisme Nepatogene - *Arthrospira platensis CNMN*-CB-01; *Arthrospira platensis* CNMN-CB-02 și *Arthrospira platensis* CNMN-CB-11. Nanoparticulele de seleniu sintetizate au fost caracterizate prin spectroscopie UV-Vis, microscopie electronică de transmisie și scanare și spectroscopie cu raze X cu dispersie de energie (EDX).

Condițiile de biosinteză a nanoparticulelor de seleniu cu aplicarea biomasei integrale au fost următoarele: 1g biomasă de spirulină se introduce în 1000 ml sol precursor (soluție de selenit de sodiu cu concentrația 100 mg/l). Durata de contact a componentelor sistemului a fost de 24-72 ore. De asemenea, au fost utilizate și 3 fracții din biomasa de spirulină: extract de aminoacizi și oligopeptide, extract de polizaharide sulfatate și extract proteic.

Nu au fost depistate diferențe între capacitatea de biosinteză a nanoparticulelor în dependență de tulpină, toate fiind eficiente. În toate 3 cazuri de aplicare a biomasei integrale nanoparticulele de seleniu au fost obținute la suprafața, cât și în interiorul celulelor de spirulină, fiind caracterizate prin grad înalt de dispersie atunci când sunt formate exterior, iar intracelular formează aglomerări în micelii lipidice. Dimensiunea nanoparticulelor a fost de 12-95 nm. Timpul util pentru realizarea biosintezei nanoparticulelor de seleniu pe biomasa integrală este de 24 ore. Biosinteza nanoparticulelor de selen pe fracțiile proteice din biomasa de spirulină are loc în intervalul de timp de 60-90 min, iar pe fracțiile polizaharidice - timp de 120 min.

Extractele din biomasa de spirulină sunt caracterizate prin putere de reducere înaltă, ceea ce asigură realizarea cu succes a procesului de sinteză a SeNP – între 65 și 110 µg acid ascorbic echivalent per mg de extract. Puterea de reducere a extractelor scade exponențial pe durata procesului de biosinteză, până la valori de 20-30 µg acid ascorbic echivalent per mg de extract în cazul extractelor proteic și de aminoacizi și oligopeptide și până la 0 în cazul celui polizaharidic.

ABORDĂRI BIOTEHNOLOGICE PENTRU PROTECȚIA MEDIULUI: UTILIZAREA PLANTELOR AUTOHTONE PENTRU BIOREMEDIEREA SOLURILOR POLUATE CU METALE GRELE

https://doi.org/10.52757/imb21.062

Vasilachi Ionela Cătălina[1], Asiminicesei Dana Mihaela[1], Minuț Mariana[1], Cozma Petronela[1], Comăniță Elena-Diana[1], Hlihor Raluca Maria[2], Gavrilescu Maria[1,3]

[1]Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iași, Facultatea de Inginerie Chimică și Protecția Mediului "Cristofor Simionescu", Departamentul de Ingineria și Managementul Mediului, Bd. Prof. D. Mangeron nr. 73, 700050 Iași, România

[2]Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad"din Iași, Facultatea de Horticultură, Departamentul de Tehnologii Horticole, Aleea Mihail Sadoveanu nr.3, 700490 Iași, România

[3]Academia Oamenilor de Știință din România, Str. Ilfov nr. 3, 050044 București, România

e-mail: ionela.vasilachi@yahoo.com

Industrializarea, urbanizarea și agricultura modernă au sporit contaminarea solului cu metale grele, având o evoluție din ce în ce mai îngrijorătoare. Metalele grele reprezintă o amenințare majoră atât pentru calitatea solului, cât și pentru sănătatea umană din cauza toxicității, nebiodegradabilității, gradului mare de persistență și mobilității acestora. Din aceste motive, poluarea cu metale grele generează impacturi majore atât pentru mediu, cât și pentru sănătatea animalelor și omului. Odată intrate în țesuturile vegetale, animale și umane prin intermediul lanțului alimentar, metalele grele pot afecta funcționarea normală a componentelor celulare vitale.

În acest contexteste vitală eliminarea acestor contaminanți din sol, prin utilizarea unor tehnici eficiente și durabile. În acest sens, biotehnologia oferă alternative fezabile pentru decontaminarea și protecția solului, între acestea fitoremedierea ocupând un loc reprezentativ. Această tehnică de bioremediere are la bază utilizarea plantelor verzi pentru reducerea, degradarea, imobilizarea sau eliminarea metalelor grele din mediu. Unele metale grele sunt toxice pentru plante, chiar și în concentrații mici, dar există plante care pot acumula metalele grele în țesuturile lor dezvoltând diverse grade de toleranță față de toxicitatea acestora, fără efecte secundare evidente ori scăderea randamentului în biomasă. Prin urmare, fitoremedierea poate fi aplicată în bioremediere, implicând studiul relației dintre plante și contaminanți pentru a asigura dezvoltarea unui proces in situ fiabil, avantajos și cu o eficiență ridicată.

O aplicație interesantă din punct de vedere ecologic și economic a fitoremedierii este fitominingul, procesul prin care biomasa plantelor hiperacumulatoare capabile să acumuleze concentrații semnificative de metale din soluri în țesuturile lor este procesată prin metode chimice, biologice sau termice în vederea recuperării metalelor din biomasa rezultată. Pentru o aplicabilitate eficientă, selectarea plantelor cu un factor ridicat de bioacumulare, cu o creștere rapidă și un randament de biomasă mare sunt etape esențiale în fitomining. În acest context, unele specii autohtone de plante s-au făcut remarcate prin toleranța lor ridicată față de metalele grele și, în același timp prin producția considerabilă de biomasă. Lucrarea de față se prezintă o analiză critică a procesului de fitominig, focalizată pe capacitatea unor plante de a extrage metale grele din sol, toleranța lor față de acești poluanți, evidențiind fitoremedierea ca o abordare biotehnologică fezabilă, cuplată cu valorificarea biomasei rezultate în vederea recuperării metalelor ca materii prime secundare.

Mulțumiri:

Această lucrare este susținută de un grant al Ministerului Educației și Cercetării din România, CCCDI - UEFISCDI, proiect PN-III-P2-2.1-PED-2019-5239, Contract nr. 269PED/2020, în cadrul PNCDI III.

PHTHALATE-DEGRADING BACTERIA OF THE FAMILY MICROCOCCACEAE, PERSPECTIVE FOR THE BIOREMEDIATION OF CONTAMINATED SOILS

https://doi.org/10.52757/imb21.063

Yastrebova O.V., Korsakova E.S., Plotnikova E.G.
The Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms,
Ural Branch, Russian Academy of Sciences
e-mail: olyastr@mail.ru

Phthalates or phthalic acid esters (PAEs) are widely spread among the environmentally hazardous, toxic and resistant to degradation pollutants. These compounds, in particular dibutyl phthalate, are widely used as plasticizers. Terephthalic acid is used in the production of polyethylene terephthalate (PET), the most commonly used thermoplastic. Bioremediation is an effective and promising cleaning technique to remove organic pollutants from environment. There is a considerable need for the search and study of microorganisms capable of degrading phthalates, including under extreme conditions (salinity, low temperatures, various pH parameters of the environment).

Earlier, bacteria of the class *Actinobacteria* were isolated from industrially contaminated soils of the Perm krai (Russia). Based on the analysis of the 16S rRNA gene, the bacteria were identified as members of the family *Micrococcaceae* (genera: *Micrococcus, Kocuria, Nesterenkonia, Arthrobacter, Glutamicibacter, Pseudoarthrobacter*). It was found that 13 bacterial strains were capable of degrading *ortho*-phthalate (OPA), dibutyl phthalate (DBP) and terephthalate (TPA), using these compounds as the only source of carbon and energy (Table). The concentration of OPA, DBP, TPA in the culture medium was 1 g/l.

Table. Growth of the strains of the family *Micrococcaceae* on phthalates

Genus	*Micrococcus*			*Kocuria*			*Arthrobacter*			*Pseudo-arthrobacter*	*Glutamicibacter*		
Strain	YK S63	38-1	69-6	WD 25	ML 17	72	SF 27	DF 14	M5 6102	PD13	BO 25	BR 4-2	PB 8-1
OPA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DBP	±	–	–	±	±	–	+	+	+	+	–	+	+
TPA	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	+	–	+

Active strains-degraders of phthalates *Glutamicibacter* spp. PB8-1 and BO25 were selected for further investigation. Phylogenetic analysis (16S rDNA) showed that the strain BO25 had the highest level of similarity (99.1%) with the strain of the type species *Glutamicibacter nicotianae* DSM20123^T (NR_026190). The strain PB8-1 had 100% similarity with the type strain *Glutamicibacter arilaitensis* Re117^T (NR_074608). During periodic cultivation of the strain PB8-1 in mineral medium K1 with TPA (1 g/l), the maximum values of growth parameters (OD_{600} value) and 80% utilization of TPA were recorded after 52 hours. For the BO25 strain, the maximum value of the optical density of the culture was recorded after 72 hours, and the utilization of TPA was 91% after 102 hours of cultivation. The strains were capable of degrading phthalates (TPA) under salinity up to 5 g/L NaCl in the cultivation medium.

Thus, the strains capable of efficient utilization of phthalates (OPA, DBP, TPA), which are the ubiquitous environmental pollutants, were identified. The strains can be tried in the development of new biotechnologies related to the remediation and monitoring of contaminated soils, including under saline conditions.

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research and the Ministry of Education and Science of the Perm krai (the research project № 19-44-590011 r_a).

METAL REMOVAL FROM ZINC-CONTAINING EFFLUENT USING TWO BIOLOGICAL SORBENTS

https://doi.org/10.52757/imb21.064

Zinicovscaia Inga[1,2]

[1]*Joint Institute for Nuclear Research, Joliot-Curie Str., 6, Dubna, Moscow region, Russia, 141980*
[2]*Horia Holubei National Institute for R&D in Physics and Nuclear Engineering (IFIN-HH), Reactorului Str., 30, Bucharest - Magurele, Romania, MG-6*
e-mail:zinikovskaia@mail.ru

The removal capacity of two biological sorbents yeast *Saccharomyces cerevisiae* and *Shewanella xiamenensis* biofilm placed on zeolite for treatment of zinc-containing electroplating effluents was evaluated. Biosorbents were analyzed using scanning electron microscopy, Fourier transform infrared analysis (FTIR) and neutron activation analysis.

The removal of metal ions from synthetic effluents was studied as a function of pH, interaction time, zinc concentration and temperature. Characterization of biosorption equilibrium was evaluated employing the Langmuir, Freundlich and Temkin models. Langmuir and Freundlich isotherm models were suitable to describe Zn(II) biosorption onto *Saccharomyces cerevisiae* with q_m values in the range 8.99-17 mg/g. Maximum sorption capacity of *Shewanella xiamenensis* biofilm placed on zeolite calculated from Langmuir model changed from 3.4 to 6.5 mg/g. High values of the coefficient of determination calculated for pseudo-second-order and the Elovich models indicate the predominant role of chemisorption in metal removal by both sorbents. According to the thermodynamic parameters, the biosorption was described as a spontaneous process.

The highest efficiency of removal of Zn(II) ions from complex real effluent by yeast *Saccharomyces cerevisiae* was achieved in a two-stage subsequent system with the addition of new biosorbent: 20 g/L of biosorbent at the first stage and 10 g/L of sorbent on the second stage at pH 6.0 and contact time 60 min. By varying the *Shewanella xiamenensis* biofilm placed on zeolite dosage in two stages it was possible to remove from 58 to 85% of Zn(II) from the effluent.

Yeast *S. cerevisiae* showed has proven to be a good candidate for the treatment of zinc-containing complex effluents.

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (RFBR), grant No. 18-29-25023 mk.

Platforma:

PREPARATE MICROBIENE – ELABORARE ŞI PERSPECTIVA UTILIZĂRII

Platform:

MICROBIAL PREPARATIONS – ELABORATION AND PERSPECTIVES

CERCETĂRI PRIVIND INFLUENȚA PREPARATULUI BIOLOGIC ACTIV DIN LEVURI ASUPRA PARAMETRILOR PRODUCTIVI ȘI DE REPRODUCȚIE LA SUINE

https://doi.org/10.52757/imb21.065

Carapirea Anatoli
Universitatea Agrară de Stat din Moldova
xmen1986@mail.ru; alisa.pirlog@gmail.com

Rezumat

În această lucrare s-a evaluat influența preparatului manoproteic biologic activ, obținut din biomasa de levuri de bere, asupra scroafelor în a II perioadă de gestație, în vederea ameliorării caracteristicilor productive și a indicilor de reproducție.

Rezultatele cercetărilor au demonstrat că la naștere, în lotul martor (LM), s-au obținut în medie 10,8 purcei vii, iar în lotul experimental (LE) - 12,4, viabilitatea purceilor la 21 de zile în LM a fost de 10,4 purcei vii iar în LE - 12,0.

Masa cuibului la naștere în LM a constituit în medie 15,99 iar în LE - 17,18 kg. La 21 de zile masa cuibului a constituit 67,93 pentru LM și 68,78 kg pentru LE.

Astfel, putem menționa că rezultatele obținute, vor aduce o contribuție reală la eficientizarea procesului de reproducție și creștere a suinelor.

***Cuvinte cheie*:** scroafe, purcei, levuri de bere, manoproteine, substanțe biologic active.

Introducere

Este unanim acceptat că managementul nutrițional este principalul factor limitativ al funcției de reproducție la animalele domestice. O continuă îmbunătățire a performanțelor de reproducție se poate realiza și printr-o alimentație cantitativă și calitativă corespunzătoare.

Performanțele de reproducție deosebite ale porcinelor (peste două fătări pe an, numărul mare de descendenți obținuți și înțărcați anual per scroafă, etc.), au consolidat interesul crescătorilor pentru această specie.

Calitatea și eficiența exploatării acestei specii este influențată în cea mai mare măsură de valoarea genetică a porcinelor utilizate în procesul de producție și reproducție. Doar alimentația optimizată în funcție de starea fiziologică și tehnologiile performante de întreținere pot evidenția potențialul genetic existent și aduce beneficii reale [2].

În ultima perioadă de gestație (ultimele 30 zile), când fetușii au o creștere mai rapidă în greutate, este necesar să se suplinească rația cu substanțe biologic active. Această problemă importantă, privind reproducția la suine, nu este pre căutată, explorată și soluționată în mod practic în țară de mult timp. Nici literatura de specialitate din țară și de peste hotarele ei nu explorează acest domeniu la nivelul necesar [1].

Biotehnologiile moderne și implementarea acestora în practica creșterii suinelor a demonstrat completamente legătura reciprocă și indisolubilă dintre reproducție și productivitate în condițiile dirijării fertilității și prolificității animalelor. În perioada pre – fetală și imediat după fătare, furajării corecte a scroafelor se acordă o deosebită atenție pentru a asigura purceilor elementele nutritive necesare și un start sănătos [4, 5].

La scroafele gestante, în special în a doua perioadă de gestație, când masa corporală a purceilor crește intensiv, rațiile trebuie să îndeplinească următoarele condiții: să asigure necesarul pentru întreținerea funcțiilor vitale proprii, să asigure substanțele nutritive pentru dezvoltarea fetușilor și să furnizeze substanțe nutritive necesare pentru dezvoltarea în continuare a organismului scroafei. De aceea, hrana scroafelor trebuie să conțină cantități echilibrate de proteină și glucide [6, 7].

În calitate de sursă excelentă de proteină și glucide pot servi microorganismele, în special levurile din genul *Saccharomyces*. Este cunoscut faptul, că preparatele biologic active de natură proteică, glucidică și vitaminică, obținute din biomasa levuriană, sunt ușor asimilabile, îmbunătățesc și sporesc considerabil, indicii productivității și fertilității la diferite grupe de animale și păsări [3].

În acest context, interes deosebit prezintă utilizarea produselor microbiene secundare, obţinute în cantităţi enorme în urma procesului de fabricare a berii și vinului, care sunt considerate deșeuri și nu sunt utilizate.

Reieșind din faptul că substanţele biologic active de diferită natură au efecte specifice asupra comportamentului alimentar al animalelor, iar unele, considerate și „fiziologic active", influenţează asupra diferitor procese fiziologice ale organismului animal: prolificitate, viteza de creștere, productivitatea înaltă la consum minim de nutreț, interes sporit prezintă cercetările ce ţin de influența acestor substanțe asupra suinelor, care ocupă un loc important în cadrul ramurii zootehnice.

Cele relatate evidenţiază actualitatea, necesitatea și perspectiva cercetărilor ce ţin de obţinerea preparatelor biologic active de origine microbiană pentru majorarea potenţialului reproductiv și productiv al animalelor de interes zootehnic şi fortificarea fondului genetic al speciilor de animale.

Astfel, scopul acestor cercetări a constat în evaluarea influenței preparatului manoproteic biologic activ, obținut din levuri, asupra parametrilor productivi și de reproducție al scroafelor gestante.

Material și metode

Ca obiect de studiu au servit scroafele hibride din rasa Marele Alb și Landrace, crescute la complexul de reproducție Agroseminvest SRL, s. Burlăceni, Cahul.

Din porcinele de rasa Marele Alb și Landrace, au fost create două loturi – martor (LM) și experimental (LE). LM a fost furajat cu nutreț combinat de bază, rația LE a fost suplimentată cu preparat manoproteic, obținut din biomasa de levuri din deșeurile industriei de bere, cu următoarea compoziție: 10 mg/ml manoproteine inclusiv aminoacizi esențiali - 0,24 mg/ml, aminoacizi imunoactivi – 0,33 mg/ml, macroelemente – 4,30 mg/ml (K; P; Na; Mg; Ca), microelemente – 2,20 mg/ml (Fe; Al; Mn; Cu; C_2; Mo; Ni; Co; Zn; Se; Ag), posedă activitate antioxidantă totală egală 2,3±0,15 mg trolox echivalent 100 mg B/m și a enzimelor antioxidante - catalaza și superoxiddismutaza de 741,2 ±44,8 mmol/ml/ proteină și respectiv 66,2±2,3 U/mg proteine.

Preparatul manoproteic a fost suplimentat la rația furajeră de bază a scroafelor în cantitate de 3,3 ml per 1 kg de furaj, care s-a administrat zilnic scroafelor câte 3,5-4,0 kg per cap (în două rate) în funcție de masa corporală, în a doua perioadă de gestație pe durata de 30 zile până la parturiție și 10 zile după parturiție. Au fost monitorizați următorii indici: numărul purceilor născuți vii și morți, masa cuibului la naștere și la 21 zile.

Rezultate și discuții

Animalele din ambele loturi s-au aflat în aceleași condiții de întreținere și alimentație. Hrănirea s-a efectuat cu raţii comune, balansate conform normelor de hrănire existente. În rația LE s-a adăugat suplimentar preparatul manoproteic conform schemei experimentale.

După gestație a fost evaluat numărul de purcei vii și morți născuți, iar peste 21 zile determinat numărul purceilor care au supraviețuit în ambele loturi. Rezultatele prezentate în tabelul 1, demonstrează că numărul de purcei vii născuți în LE este în medie de 12,4 ± 0,4 s-au cu 1,6 purcei mai mulți ca în LM. Purceii morți născuți în LE a fost în medie de 0,8±0,3 capete sau cu 1,8 purcei morți mai puțini. Viabilitatea purceilor la 21 de zile în LM a fost de 10,4 ± 0,4 purcei vii iar în LE 12,0 ± 0,4 purcei vii.

În continuare a fost determinată masa cuibului la naștere (masa corporală a purceilor nou născuți) și masa cuibului după 7 și 21 zile de dezvoltare a ambelor loturi. S-a stabilit că la naștere în LM masa cuibului a fost de 15,99±2,01kg, iar în LE în medie de 17,18±1,10 kg sau cu 1,19 kg mai mare comparativ cu lotul martor. Masa vie a cuibului la a 7-a zi după naștere în LM a fost în medie de 33,09± 3,25 kg, iar în LE de 34,67± 4,19 kg, ceea ce este cu 1,58 kg mai mare comparativ cu valoarea de referință.

Deși la a 21 zi după naștere, diferența dintre masa cuibului purceilor în LM și LE este mai mică decât la naștere și după 7 zile, totuși ea este destul de semnificativă și constitue 0,85 kg.

Astfel, după 21 zile masa cuibului purceilor din LM era de 67,93 ± 8,03 kg, iar în LE - 68,78 ±5,90 kg. Rezultatele sunt prezentate în figura 1.

Tabelul 1. Numărul de purcei vii, morți născuți și supraviețuitori la 21 de zile, în funcție de rația furajeră

Nr. cuibului	Lotul martor (LM)				Lotul experimental (LE)			
	La fătare		Peste 21 zile		La fătare		Peste 21 zile	
	vii, capete	morți, capete	vii, capete	morți, capete	vii, capete	morți, capete	vii, capete	morți, capete
1	11	2	11	0	11	2	11	0
2	9	2	9	0	13	0	12	1
3	11	0	10	1	13	1	13	0
4	12	3	12	0	13	0	13	0
5	11	6	10	1	12	1	11	1
Media	10,8±0,5	2,6±0,9	10,4 ± 0,4	2	12,4±0,4	0,8±0,3	12,0 ± 0,4	2

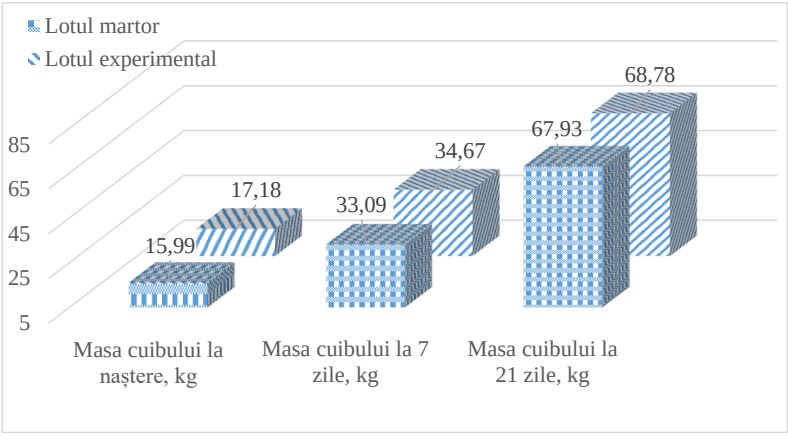


Fig. 1. Masa vie a cuibului la naștere, după 7 și 21 de zile, în funcție de rația furajeră.

Astfel, putem menționa că suplinirea rației de bază a scroafelor, cu 30 zile înainte de fătare și 10 zile după fătare, cu preparat manoproteic în volum de 10-15 ml per cap/zi, acționează asupra metabolismului animalelor, sporind energia de creștere a tineretului porcin.

Concluzii

1. Suplinirea rației furajere de bază la scroafe cu 30 zile înainte de fătare și 10 zile după fătare, cu preparatul manoproteic obținut din biomasa levurilor din deșeurile industriei de bere în cantitate de 10-15 ml per cap/zi, sporește numărul de purcei vii la fătare cu 1,6 capete și reduce numărul de purcei născuți morți cu 1,8 comparativ cu lotul martor.
2. Preparatul manoproteic din biomasa levurilor, utilizat în calitate de supliment la rația de bază a scroafelor gestante, contribuie la majorarea masei vii a cuibului la naștere cu - 1,19, la 7 zile cu – 1,58 și la 21 zile cu – 0,85 kg comparativ cu lotul martor.

Bibliografie:

1. Huțu I. Reproducerea intensivă la scroafe, Timișoara, 2005, 456p,(p 226, 227, 261, 354).
2. Ladoși I. Performanțele scroafelor de reproducție hibrid – dincolo de cifre!. Revista Ferma, 2007, Nr.10., p.54.
3. Shurson G.C. Yeast and yeast derivatives in feed additives and ingredients: Sources, characteristics, animal responses, and quantification methods. Animal Feed Science and Technology. 2018, vol. 235, p. 60–76, https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.11.010.
4. Антонюк В.С. Биотехнологические способы повышения эффективности оплодотворения сельскохозяйственных животных. Минск. Урожай. 1988. 185 с.
5. Милованов В.К. Биология воспроизведения и искусственное осеменение животных. М.: Сельхозчиз, 1962. 696 с.
6. Нарижный А.Г., Джамалдинов А.И, Походня Г.С. Влияние скормливания пророщенного зерна ячменя на воспроизводительскую функцию свиноматок м рост поросят. Сб. Проблемы биологии продуктивных животных. 2020, 1, с.64-70.
7. Осипенко К.С., Галочкин В.А., Колоскова Е.М., Галочкина В.П. Влияние нового микронутриента − аскорбата лития на стрессоустойчивость и продуктивность свиноматок Сб. Проблемы биологии продуктивных животных, 2017, 2, с.74-86.

Rezultatele au fost obținute în cadrul Proiectului 20.80009.5107.16 „Preparate microbiene biologic active noi pentru majorarea potenţialului reproductiv şi productiv al animalelor de interes zootehnic", finanțat de ANCD.

VIABILITATEA ŞI CARACTERELE MORFO-CULTURALE ALE *STREPTOMYCES CANOSUS* CNMN-Ac-02 DUPĂ LIOFILIZARE ÎN PREZENŢA GLICOZIDELOR IRIDOIDE

https://doi.org/10.52757/imb21.066

Chiseliţa Oleg[1], Burţeva Svetlana[1], Bîrsa Maxim[1], Maşcenco Natalia[2]
[1]*Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie, Republica Moldova*
[2]*Institutul de Genetică, Fiziologie şi Protecţia Plantelor, Republica Moldova*
e-mail: chiselita@mail.ru

Rezumat

În articol sunt prezentate date cu privire la influenţa glicozidelor iridoide (GI) din *Linaria genistifolia* L. Mill, asupra viabilităţii şi stabilităţii proprietăţilor morfo-culturale ale tulpinii *Streptomyces canosus* CNMN-Ac-02 după liofilizare şi păstrare îndelungată. În rezultatul cercetărilor s-a stabilit că suplinirea mediului protector gelatină 2,5 % + glucoză 7,5 %, cu GI în concentraţie de 0,05; 0,005; 0,0005; 0,00005 %/V asigură tulpinii *S. canosus* CNMN-Ac-02 viabilitate înaltă după liofilizare şi un an de păstrare cu 34,7-53,4 % şi respectiv 38,7-47,9 % mai mare comparativ cu martorul şi stabilitate ale caracterelor morfo-culturale pe durata păstrării îndelungate. Rehidratarea tulpinii liofilizate, după un an de păstrare, cu soluţii hidrice de GI cu concentraţia 0,00005% şi 0,000005%/V oferă tulpinii *S. canosus* CNMN-Ac-02 viabilitate cu 13,4 şi 14,8 % mai mare comparativ cu apa distilată.

***Cuvinte cheie**:* streptomicete, glicozide, viabilitate, liofilizare, lioprotector, caractere morfo-culturale.

VIABILITY AND MORPHO-CULTURAL CHARACTERISTICS OF *STREPTOMYCES CANOSUS* CNMN-Ac-02 AFTER LYOPHILIZATION IN THE PRESENCE OF IRIDOID GLYCOSIDES

Abstract

The article presents results on the influence of iridoid glycosides (GI) from *Linaria genistifolia* L. Mill, on the viability and stability of the morpho-cultural properties of the *Streptomyces canosus* CNMN-Ac-02 strain after lyophilization and long-term storage. According to the research, it was established that the supplementation of the protective medium gelatin 2.5% + glucose 7.5%, with (GI) in a concentration of 0.05; 0.005; 0.0005; 0.00005% /V ensures *S. canosus* CNMN-Ac-02 strain high viability after lyophilization and one year of storage by 34.7-53.4% and 38.7-47.9% higher compared to the control, respectively. Additionally, it stabilize morpho-cultural characters during long storage. Rehydration of the lyophilized strain, after one year of storage, with (GI) aqueous solutions with a concentration of 0.00005% and 0.000005% /V assure *S. canosus* CNMN-Ac-02 strain viability by 13.4 and 14.8% higher compared to distilled water.

Keywords: streptomycetes, glycosides, viability, lyophilization, lyoprotector, morpho-cultural characteristics.

Introducere

Păstrarea durabilă a tulpinilor valoroase de microorganisme reprezintă un factor important pentru utilizarea lor atât în calitate de obiect al cercetărilor ştiinţifice fundamentale, cât şi în calitate de obiecte biotehnologice. Astfel, a fost necesară fondarea unor structuri responsabile de păstrarea diversităţii microbiene, iar în Republica Moldova funcţiile unei astfel de instituţii sunt îndeplinite de Colecţia Naţională de Microorganisme Nepatogene din cadrul Institutului de Microbiologie şi Biotehnologie [17, 18, 28, 31].

Ca răspuns la necesitatea asigurării industriei biotehnologice cu tulpini viabile şi active de microorganisme cu parametri biotehnologici stabili, este necesară elaborarea unor metode eficiente de conservare şi păstrare a tulpinilor de interes biotehnologic şi ştiinţific. Problema păstrării şi conservării microorganismelor cuprinde o serie de obiective, dintre care cel mai important este

depistarea condițiilor optime de conservare și păstrare a celulelor microbiene pentru evitarea leziunii acestora [15].

Astfel, cele mai eficiente și comode metode de păstrare sunt considerate crioconservarea şi liofilizarea [6].

Păstrarea durabilă şi eficientă a microorganismelor depinde de alegerea corectă a metodei de conservare, parametrilor fizici ai procesului, mediilor de protecţie şi de revitalizare [3]. Pe parcursul liofilizării, microorganismele sunt expuse la o serie de factori negativi, ca temperaturile joase şi desecarea în vid, care duc la morbiditate înaltă a celulelor. O altă cauză a pieririi microorganismelor este stresul oxidativ, în rezultatul căruia se formează specii reactive de oxigen, care au un efect negativ asupra membranelor celulare [10, 14].

Actualmente, sunt cunoscute un șir de substanţe de diversă natură, cu proprietăţi antioxidante (acidul ascorbic, ascorbatperoxidaza) şi crioprotectoare (mono-, di-, oligo- şi polizaharidele, glutamatul și tiosulfatul de natriu, prolina și peptona, glicerina, xantanul, maltodextrina, manitolul, polivinilpirolidona, etilenglicolul), utilizate în procesul de conservare a microorganismelor, pentru protecția celulelor şi stabilizarea membranelor [2, 7, 16, 19].

Una din problemele colecţiilor de microorganisme, inclusiv a Colecţiei Naţionale de Microorganisme Nepatogene, este păstrarea eficientă a actinobacteriilor din genul *Streptomyces*, care în comparaţie cu bacteriile, levurile şi fungii se caracterizează prin instabilitate genetică înaltă și riscă să-și piardă potențialul biosintetic în urma păstrării incorecte [4, 5, 13]. Selectarea metodelor și mediilor de protecție pentru conservarea eficientă a acestui grup de microorganisme este unul din multiplele obiective ale CNMN. Indicii de bază pentru aprecierea eficacității metodelor aplicate constă în menținerea viabilității şi stabilităţii celulelor microbiene.

Astfel, pornind de la faptul, că elaborarea metodelor eficiente de conservare a culturilor de microorganisme de interes biotehnologic rămâne o direcție actuală la nivel mondial și că în literatura de specialitate, sunt foarte puține relatări referitor la utilizarea preparatelor naturale în procesul de liofilizare a tulpinilor de microorganisme, interes enorm prezintă studiul influenţei substanţelor de origine vegetală asupra viabilității și stabilității tulpinilor de streptomicete după liofilizare și păstrare îndelungată [20].

Procesul de liofilizare se bazează pe congelarea materialului biologic în timpul căreia se formează cristale de gheaţă care provoacă diverse leziuni ale celulelor vii. Pentru a minimiza acest efect negativ, sunt utilizate diverse substanţe protectoare. Dintre acestea fac parte alcoolii, carbohidraţii, polizaharidele, aminoacizii, diverse substraturi de natură complexă, precum laptele degresat, mierea, extractul de drojdie, etc. [7].

Rehidratarea microorganismelor de asemenea reprezintă o etapă importantă în procesul liofilizării şi serveşte pentru revitalizarea celulelor. Pentru rehidratare sunt utilizate diverse soluţii izotonice în baza sărurilor minerale, carbohidraţilor sau apa distilată. Uneori combinarea mediului protector cu cel de rehidratare rezultă în majorarea semnificativă a viabilităţii microorganismelor [10].

O direcție nouă în cadrul criobiologiei este utilizarea principiilor de origine vegetală în calitate de componente ale mediilor de protecție și rehidratare pentru liofilizare. Conform literaturii de specialitate, utilizarea substanţelor biologic active, așa ca glicozidele, în biotehnologiile moderne are o mare importanță practică și este argumentată prin numeroasele proprietăți ale acestor substanțe: stimularea proceselor de creștere și dezvoltare a plantelor, astfel are loc accelerarea semnificativă a productivității culturilor agricole, totodată asigurând rezistența acestora la factorii de mediu nefavorabili (secetă, umiditate în exces, temperaturi extreme) și rezistența nespecifică a plantelor la un număr mare de agenți fitopatogeni [21, 24].

Drept argument pentru utilizarea glicozidelor în calitate de lioprotectant și revitalizant, servesc datele legate de interacțiunea pozitivă a microorganismelor cu compuși glicozidici [1].

Astfel, reieşind din cele expuse, **scopul cercetărilor** constă în evaluarea influenţei glicozidelor iridoide (GI) din *Linaria genistifolia* L. Mill asupra viabilităţii şi caracterelor morfo-culturale ale tulpinii *Streptomyces canosus* CNMN-Ac-02 după liofilizare și păstrare îndelungată.

Material şi metode

Ca obiect de studiu a servit tulpina *Streptomyces canosus* CNMN-Ac-02, depozitată în Colecţia Naţională de Microorganisme Nepatogene (CNMN), producătoare de fitohormoni (auxine, gibereline), aminoacizi esenţiali, imunoactivi, lipide, inclusiv fosfolipide, sterine şi acizi graşi nesaturaţi, care prezintă interes pentru agricultură, zootehnie şi fitotehnie [25]. Tulpina este menţinută pe mediul agarizat Czapek cu glucoză, la t°= +4°C. Pentru liofilizare, tulpina a fost cultivată în tuburi de sticlă pe mediul agarizat Czapek cu glucoză, timp de 14 zile, la t°= +27°C, până la faza staţionară de dezvoltare [27]. Liofilizarea a fost efectuată la liofilizatorul „LABCONCO" FreeZone Plus 6 Liter Cascade Console Freeze Dry System (SUA), la temperatura condensorului de -88 ... -94ºC, în vid 6-7 Pa, temperatura de pre congelare -50°C, timp de 12 ore.

În calitate de mediu protector a servit mediul gelatină 2,5% + glucoză 7,5% [10, 29, 34] (mediul martor) şi variantele acestuia, suplimentate cu GI din *L. genistifolia* L. Mill, în concentraţii de 0,05; 0,005; 0,0005; 0,00005 %/V.

Pentru rehidratarea tulpinii a fost utilizată apa distilată [9, 30] şi soluţii de GI de 0,005; 0,0005; 0,00005; 0,000005 %/V. Rehidratarea a fost efectuată la temperatura camerei timp de 1 oră. Probele liofilizate au fost păstrate la temperatura +4ºC.

Pentru a determina viabilitatea culturii, conţinutul fiolelor a fost resuspendat în 1,0 ml de mediu de rehidratare. După efectuarea diluţiilor succesive şi inocularea acestora pe mediul agarizat Czapek cu glucoză, s-a efectuat calculul unităţilor formatoare de colonii peste 7-14 zile de incubare la +27°C [30, 34]. Numărul de celule viabile a fost exprimat prin log_{10} a unităţilor formatoare de colonii (UFC) în 1,0 ml de suspensie.

Viabilitatea a fost calculată conform formulei BSR = (*log*BL/*log*AL) × 100 [11], unde BSR este viabilitatea tulpinii în %, *log*BL – logaritmul numărului UFC până la liofilizare şi *log*AL – logaritmul numărului UFC după liofilizare sau păstrare. Caracterele morfo-culturale au fost descrise conform surselor literare [26, 29, 30].

Identificarea culorii miceliului aerian şi a celui de substrat, precum şi modificarea culorii mediului de cultivare a fost efectuată după analiza scării de culori propuse de Bondarţev [22].

Prelucrarea statistică a datelor a fost efectuată cu ajutorul programului Office Excel 2010.

Rezultate şi discuţii

Deoarece, în cercetările anterioare s-a stabilit că păstrarea îndelungată, prin reânsămânţări periodice, duce la scăderea drastică a proprietăţilor biosintetice, iar păstrarea în stare liofilizată, pe mediul de protecţie gelatină 2,5% + glucoză 7,5%, la diminuarea semnificativă a viabilităţii *S. canosus* CNMN-Ac-02, a fost necesar de a elabora un mediu de protecţie mai eficient pentru conservarea tulpinii în CNMN. Pentru aceasta mediul de protecţie susmenţionat a fost suplinit cu GI în diferite concentraţii 0,05; 0,005; 0,0005; 0,00005 %/V. După liofilizare şi păstrare îndelungată tulpina a fost revitalizată cu apă distilată şi soluţii de GI cu concentraţia de 0,005; 0,0005; 0,00005; 0,000005 %/V.

De regulă, pentru ca procesul de liofilizare să se considere de succes, este necesar ca viabilitatea tulpinii să nu fie mai mică de 70-80%, să nu sufere modificări genetice şi morfo-culturale majore şi să fie cu uşurinţă revitalizată [8].

În rezultatul cercetărilor s-a stabilit că suplinirea mediului protector martor cu GI a avut efect pozitiv asupra viabilităţii tulpinii, aceasta după liofilizare fiind de 120,9-139,6 %, ce este cu 34,7-53,4 % mai mare ca în probele martor, în funcţie de concentraţiile utilizate. Merită menţionat faptul, că valori maximale ale viabilităţii au fost înregistrate în probele cu concentraţia GI mai mică. În acelaşi timp, trebuie menţionat că în toate probele liofilizate cu utilizarea GI, numărul celulelor viabile după liofilizare, este mai mare decât cel iniţial cu 20,9-39,6%. Utilizarea GI în componenţa soluţiei de rehidratare nu a influenţat viabilitatea tulpinii, valorile acesteia fiind practic identice celor înregistrate în probele rehidratate cu apă distilată. Rezultatele sunt prezentate în figura 1.

Creşterea titrului tulpinii după liofilizare în probele suplimentate cu GI poate fi explicată prin faptul că numeroşi spori ai tulpinii se află în stare latentă şi din diverse motive nu germinează în condiţii standard de cultivare, însă pot germina sub influenţa factorilor stresanţi şi/sau în prezenţa

unor substanţe biologic active [33]. Conform surselor de specialitate glicozidele posedă efecte de stimulare a metabolismului, ce accelerează dezvoltarea ţesuturilor organismelor vii [23], acţionând şi ca stimulator al germinării sporilor latenţi [32].

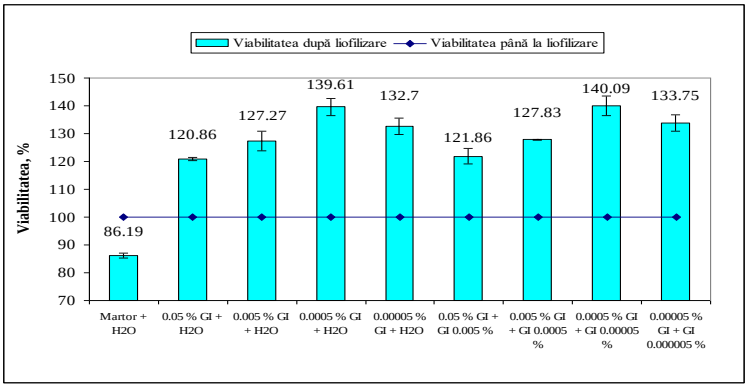


Fig. 1. Viabilitatea tulpinii *S. canosus* CNMN-Ac-02 după liofilizare pe mediu protector suplinit cu GI și rehidratare cu utilizarea apei distilate și a soluțiilor de GI de diferite concentrații.

În continuare au fost verificate caracterele morfo-culturale ale tulpinii după liofilizare, în dependenţă de mediul de protecţie şi rehidratare utilizat. Este important ca tulpina să nu sufere modificări fenotipice şi să-şi păstreze caracterele morfo-culturale specifice, deoarece de aceasta în mare măsură depinde potenţialul biosintetic al tulpinii, calitatea şi activitatea biologică a metaboliţilor ei.

Conform lui Krasilinikov [29], tulpina *S. canosus* CNMN-Ac-02 se referă la „grupul gri", reprezentanţilor căruia le este caracteristică culoarea gri a miceliului aerian. La reprezentanţii tipici a acestui grup, deseori miceliul aerian este gri închis, uneori cu o nuanţă verzuie sau albastră. Majoritatea speciilor din „grupul gri" au miceliul aerian de culoarea gri-deschisă, gri cenuşie sau de la gri închis, până la alb gri. Conform lui Krasilinikov [29], Valagurova [26] şi Postolachi [12], pe mediul Czapek agarizat tulpina manifestă creştere activă, coloniile şi mediul sunt incolore, miceliul aerian este alb-gri, miceliul de substrat – incolor, pigmentul solubil este absent.

Pentru studierea caracterelor morfo-culturale tulpina liofilizată a fost revitalizată şi cultivată pe mediul Czapek agarizat. Conform rezultatelor obţinute, tulpina după liofilizare practic nu se deosebeşte după proprietăţile morfo-culturale descrise în paşaportul său şi literatura de specialitate [26]. Culoarea miceliului aerian nu a fost influenţată de prezenţa GI în mediul de protecţie, în acelaşi timp, miceliul de substrat a manifestat, în dependenţă de concentraţia GI, o varietate de culori: gri, galben, samoa.

În majoritatea variantelor studiate, tulpina a manifestat proprietatea de a sintetiza un pigment solubil de culoare roz-pal, care colorează mediul în jurul coloniilor. Forma coloniilor a fost practic identică la toate variantele studiate, fără schimbări în urma procesului de liofilizare. Marginile coloniilor *S. canosus* CNMN-Ac-02 au fost netede, profilul la toate variantele în studiu a fost ombilicat, deşi înainte de liofilizare era bombat.

Utilizarea soluţiilor de GI pentru rehidratare nu a cauzat modificări majore în caracterele morfo-culturale ale coloniilor, însă ele trebuie menţionate: la variantele experimentale forma coloniilor a devenit circulară, marginea ondulată, iar profilul bombat. Dimensiunile coloniilor nu au suferit modificări esenţiale.

Deoarece liofilizarea este o metodă de conservare care trebuie să asigure viabilitate înaltă tulpinilor pe un termen îndelungat, la următoarea etapă a cercetărilor a fost evaluată viabilitatea şi proprietăţile morfo-culturale ale tulpinii *S. canosus* CNMN-Ac-02 după un an de păstrare.

Rezultatele cercetărilor au demonstrat că deși viabilitatea tulpinii liofilizate, după un an de păstrare pe mediul protector cu GI în diferite concentrații, este mai mică comparativ cu cea stabilită imediat după liofilizare, ea în continuare este mai înaltă decât cea inițială - 116.2-125.4 %, ce constituie cu 38,7-47,9 % mai mult față de proba martor. Acest fapt denotă că efectul GI de majorare a titrului tulpinii, stabilit imediat după liofilizare, se păstrează timp îndelungat. De asemenea trebuie menționat că în probele experimentale, cu concentrația GI mai mică, în care imediat după liofilizare s-a înregistrat viabilitate maximă (fig.1), după 1 an de păstrare, morbiditatea este mai pronunțată decât în probele cu concentrația GI mai mare și cea martor, dar numărul de celule vii oricum prevalează față de probele de referință. Alt rezultat care merită evidențiat, este faptul că peste un an de păstrare, mediul de rehidratare a influențat semnificativ viabilitatea tulpinii. În cazul variantelor experimentale rehidratate cu soluții de GI 0,00005% și 0,000005%/V, viabilitatea tulpinii a fost mai mare cu 13,4 % și 14,8 %, față de probele rehidratate cu apă distilată. Toate rezultatele sunt prezentate în figura 2.

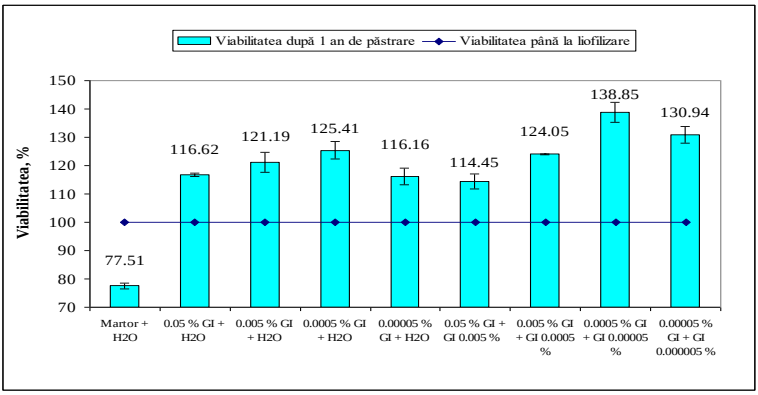


Fig. 2. Viabilitatea tulpinii *S. canosus* CNMN-Ac-02 după 1 an de păstrare în stare liofilizată și rehidratare cu utilizarea apei distilate și a soluțiilor de GI de diferite concentrații.

În final, peste 1 an de păstrare, practic nu s-au constatat modificări ale caracterelor morfo-culturale ale tulpinii *S. canosus* CNMN-Ac-02 comparativ cu cele descrise după liofilizare.

Concluzii

1. GI din *Linaria genistifolia* L. Mill, suplimentate la mediul protector gelatină 2.5% + glucoza 7.5% în concentrație de 0.05; 0.005; 0.0005; 0.00005 %/V posedă efect protector semnificativ și pot fi utilizate pentru elaborarea mediilor de protecție pentru liofilizarea microorganismelor.
2. Mediul protector, suplimentat cu GI în diferite concentrații, asigură tulpinii *S. canosus* CNMN-Ac-02 viabilitate înaltă după liofilizare și un an de păstrare, cu 34.7-53.4 % și respectiv 38.7-47.9 % mai mare comparativ cu martorul și stabilitate ale caracterelor morfo-culturale pe durata păstrării.
3. Soluțiile hidrice ale GI cu concentrația 0,00005% și 0,000005%/V oferă tulpinii *S. canosus* CNMN-Ac-02 viabilitate cu 13.4 și 14.8 % mai mare comparativ cu apa distilată, după un an de păstrare și pot fi utilizate în calitate de medii de rehidratare a tulpinii după păstrare îndelungată.

Bibliografie:

1. Biernat K. A., Li B., Redinbo M. R. Microbial unmasking of plant glycosides. // mBio, v. 9, 2018, e02433-17.

2. Cepoi L. Antioxidant activity in *Haematococcus pluvialis* cells during the vital cycle. // 2nd International Conference on Microbial Biotechnology, 9-10 October 2014. Chişinău: Tipografia "Elena-V.I.", 2014, pp. 25-29.
3. Chiseliţa O., Burţeva S., Bîrsa M., Bulimaga V., Vasiliciuc A. Viability and antimicrobial activity of streptomyces strains from NCNM after lyophilization. // Studia Universitatis Moldaviae, Seria Ştiinţe reale şi ale naturii, v. 91, № 1, 2016, p.61-71.
4. Chiselita O., Byrsa M., Vasiliciuc A., Burtseva S. Lioprotective potential of cyanobacterial extracts. International scientific conference on microbial biotechnology. // 3rd International Conference on Microbial Biotechnology, 12-13 October 2016. Chişinău: Tipografia "Artpoligraf", 2016, p. 180.
5. Coman G., Radvan M. Preliminary studies regarding the behaviour of selected *Streptomyces* strains as xylanases producers preserved by lyophilization. In: Scientific Study & Research. 2009, nr. 10(4), pp. 369-364.
6. Day J. G., Stacey G. Methods in molecular biology. Cryopreservation and freeze-drying protocols. // Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2007, 368 p.
7. Hubaleck Z. Protectants used in the cryopreservation of microorganisms. // Criobiology, v. 46, 2003, p. 205-229.
8. Lopez M. D. G., Fernandez F. U. La conservacion de cepas microbianas. // Actualidad SEM, 3, 2000, p. 12-16.
9. Miyamoto-Shinohara Y., Imaizumi T., Sukenobe J., Murakami Y., Kawamura S., Komatsu Y. Survival rate of microbes after freeze-drying and long-term storage. // Cryobiology, 2000, vol. 41, p. 251-255.
10. Morgan C. Freeze-drying of microorganisms. Encyclopedia of microbiology. // Oxford, UK: Academic Press (Third Edition). 2009, p. 162-173.
11. Muñoz-Rojas J., Bernal P., Duque E., Godoy P., Segura A., Ramos J. Involvement of cyclopropane fatty acids in the response of *Pseudomonas putida* KT2440 to freeze-drying. // Applied Environmental Microbiology, vol. 72, № 1, 2006, p. 472-477.
12. Postolachi O. Modificarea caracterelor culturale şi biochimice ale unor tulpini de streptomicete după păstrarea îndelungată. Autoreferat tezei de doctor în biologie. Chişinău, 2009, 28 p.
13. Rifaat H. M. Viability study of some locally isolated *Streptomycetes*. // Journal of culture collections. 2009, nr. 6(1), pp. 38-41.
14. Semenov G. V., Tikhomirov A. A., Krasnova I. S. The choice of the parameters of vacuum freeze drying to thermolabile materials with desired quality level. // International Journal of Applied Engineering Research, v. 11, № 13, 2016, p. 8056-8061.
15. She R. C., Cathy A. P. Chapter 11: Procedures for the storage of microorganisms. // Manual of Clinical Microbiology. 11th ed. USA: ASM Press, 2015, pp. 161-169.
16. Singh S., Das S. Screening, production, optimization and characterization of cyanobacterial polysaccharide. // World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2011, nr. 27(9), pp. 1971-1980.
17. Smith D., Fritze D., Stackebrandt E. Public service collections and biological resource centers of microorganisms. // The Prokaryotes – Prokaryotic Biology and Symbiotic Associations. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2013, pp. 267-304.
18. Wackett L. P. Microbial strain collections and information. An annotated selection of World Wide Web sites relevant to the topics in microbial biotechnology. // Microbial Biotechnology.2014, nr. 7(4), pp. 371-372.
19. Wang S., Oldenhof H., Goecke T., Ramm R., Harder M., Haverich A., Hilfiker A., Wolkers W.F. Sucrose diffusion in decellularized heart valves for freeze-drying. // Tissue Engineering Part C: Methods. 2015, nr. 21(9), pp. 922-931.
20. Yang S.-H., Seo S. H., Kim S. W., Choi S. K., Kim D. H. Effect of ginseng polysaccharide on the stability of lactic acid bacteria during freeze-drying process and storage. // Archives of Pharmacal Research. 2006, nr. 29(9), pp. 735-740.

21. Балашова Н.Н., Кинтя П.К., Бландинская О.А., Козарь Е.Г., Беспалько, Л.В., Балашова И.Т., Мащенко Н.Е. Влияние экзогенных стероидных гликозидов на развитие серой гнили на перце сладком в условиях пленочных теплиц Подмосковья. // Сборник научных трудов международной конференции «Селекция и семеноводство овощных культур». Москва, выпуск 45, 31.07-5.08.2014. Москва: В.Ф. Пивоваров, 2014, с. 103-114.
22. Бондарцев А.С. Шкала цветов. // М. -Л.: изд-во АН СССР, 1954, 28 с.
23. Боровская А.Д., Мащенко Н.Е., Фокша Н.Г. Применения биорегуляторов гликозидной природы при возделывании баклажанов в закрытом грунте. // Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality. Slovak University of Agriculture in Nitra. Scientific proceedings, November 28, 2016. Nitra: Slovak University of Agriculture in Nitra, 2016, pp. 34-39.
24. Ботнарь В.Ф. и др. Рекомендации по применению регуляторов роста растений в технологии возделывания овощных культур. // Кишинев: Tipografia „Print-Caro", 2015. 24 с.
25. Бурцева С.А. Биологически активные вещества стрептомицетов (Биосинтез, свойства, перспективы применения). // Автореферат диссертации на соискание учёной степени доктора хабилитат биологических наук, Кишинев, 2002. 39 с.
26. Валагурова Е. В., Козырицкая В. Е., Иутинская Г. А. Актиномицета рода *Streptomyces*. Описание видов и компьютерная программа их идентификации. // Киев – Наукова думка. 2003, 645 с.
27. Гаузе Г. Ф., Преображенская Т. П., Свешникова М. А., Терехова Л. П., Максимова Т. С. Определитель актиномицетов. // Москва: Наука, 1983, с. 24.
28. Киселица О., Бурцева С., Сырбу Т., Сланина В., Батыр Л., Бырса М. Национальная Коллекция Непатогенных Микроорганизмов Института Микробиологии и Биотехнологии АН РМ и её задачи. // Материалы Всероссийский симпозиум с международным участием: Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов. Москва, МГУ имени М.В. Ломоносова. Биологический факультет. 24–27 декабря 2014, с. 118.
29. Красильников Н. А. Лучистые грибки. // Москва, 1970, 234 с.
30. Нетрусов А. И. Практикум по микробиологии. // Москва, 2005, 603 с.
31. Новик Г., Сидоренко А., Зелинска Д., Коложин-Краевска Д. Белорусская коллекция непатогенных микроорганизмов - национальное достояние Республики Беларусь. Пробиотические бактерии. // Белорусская инновационная неделя «Состояние и перспективы совместных белорусско-польских исследований в области упрочняющих и био- технологий» : научно-практический семинар. 2011, 16–17 ноября. https://rep.bntu.by/bitstream/handle/data/1959/11.pdf?sequence=6.
32. Феофилова Е. П., Ивашечкин А. А., Алёхина А. И., Сергеева Я. Э. Споры грибов: покой, прорастание, химический состав и значение для биотехнологии (Обзор). // Прикладная Биохимия и Микробиология. Том 48, № 1, 2012, с. 5-17.
33. Феофилова Е.П. Торможения жизненной активности как универсальный биохимический механизм адаптации микроорганизмов к стрессовым воздействиям (Обзор). // Прикладная химия и микробиология. Том 39, № 1, 2003, с. 5-24.
34. Филиппова С. Н., Сургучева Н. А., Кузнецов В. Д., Эль-Регистан Г. И., Гальченко В. Ф. Оптимизация защитных сред для хранения актиномицетов в жидком азоте. // Микробиология, том 76, № 4, 2007, с. 573-576.

INFLUENȚA BIOPREPARATELOR CIANOBACTERIENE ASUPRA SPERMATOGENEZEI LA VIERI

https://doi.org/10.52757/imb21.067

Cibotaru Elena[1], Chiselița Oleg[3], Matvienco Natalia[2], Savca Diana[1], Djenjera Irina[2]
Universitatea Agrară de Stat din Moldova[1]
Institul Stiințifico-Practic de Biotehnologii în Zootehnie și Medicină Veterinară[2], Republica Moldova
Institutul de Microbiologie și Biotehnologie[3], Republica Moldova
lenuta_mar@yahoo.com

Rezumat

Scopul cercetărilor a constat în evaluarea influenței biopreparatelor complexe cianobacteriene asupra spermatogenezei la vieri în perioada critică a anului cu temperaturi caniculare. Pentru realizarea scopului au fost formate trei loturi de vieri-reproducători, unul martor și două experimentale. Rezultatele obținute au demonstrat că, preparatele ZooBioR - 1 plus și ZooBioR - 2 plus influențează pozitiv asupra indicilor cantitativi și calitativi ai materialului spermatic obținut de la vierii reproducători din loturile experimentale, în perioada anului cu temperaturi caniculare. Astfel, materialul spermatic recoltat de la vierii reproducători din loturile experimentale, s-a caracterizat prin volum mai mare și concentrație mai înaltă a spermatozoizilor, comparativ cu lotul martor.

Introducere

Reproducerea animalelor prezintă numeroase aspecte biologice, tehnologice şi economice, care influenţează direct nivelul cantitativ şi calitativ al producţiei animaliere, ceea ce evidențiază interdependența dintre producţie şi reproducţie în zootehnia modernă [1, 2, 3, 4, 5].

Progresul tehnico-ştiinţific remarcabil care s-a înregistrat în cadrul ştiinţelor biologice, implicit a celor zootehnice, a influenţat puternic tehnicile şi metodele de reproducţie, pe linia aplicării eficiente a rezultatelor cercetărilor ştiinţifice.

Cauzele principale care duc la degradarea calităţii spermei sunt întreţinerea neconformă a animalelor şi calitatea furajelor pentru masculii reproducători. Reieșind din această ipoteză, măsurile primordiale necesare pentru obţinerea materialului seminal de calitate, sunt întreţinerea şi alimentarea animalelor conform standardelor.

Numeroase studii au avut ca obiectiv identificarea unor acţiuni pentru îmbunătăţirea calităţii spermei, dar în marea majoritate a cazurilor rezultatele nu sunt foarte convingătoare. Cu toate acestea, există unele măsuri care ar putea avea efect pozitiv asupra calităţii şi cantităţii spermei, pentru că implementarea lor nu presupune efort deosebit sau costuri exagerate, iar capacitatea fecundantă a spermatazoizilor poate fi ameliorată [3,4,6,11].

Actualmente, sunt cunoscute diferite metode de stimulare a spermatogenezei la vieri și menținere a calității și cantității materialului seminal, bazate pe furajare cu nutreţuri cu conţinut înalt de proteine de origine animală (lapte degresat, făină de peşte, ouă), vegetală (orz, grâu, ovăz, etc.), vitamine A și E, microelemente, diverse premixuri [9, 10], însă neajunsul lor constă în complexitatea furajelor utilizate și oscilația statistic semnificativă în cantitatea și calitatea materialului seminal pe parcursul anului în dependență de anotimp. Se cunoaște că în lunile de primăvară și vară, când temperatura crește peste 35°C, se reduce cantitatea și calitatea materialului seminal la vieri, ce influențează negativ fertilitatea și eficiența utilizării fondului genetic suin [7, 9].

Pentru caracterizarea calității materialului seminal, de regulă se efectuează spermograma, care presupune evaluarea macroscopică și microscopică a materialului spermatic și cuprinde informaţii de bază cu privire la volumul, mobilitatea, concentraţia, mișcarea spermatozoizilor și procentul de spermatozoizi cu anomalii, indici care pot fi afectați de condițiile de întreținere a animalelor, temperaturile suboptimale și calitatea furajelor [5, 6, 8].

Material și metode

Pentru stimularea spermatogenezei la vieri în perioada critică a anului cu temperaturi caniculare, au fost testate preparatele biologic active complexe, obținute la Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, din *Arthrospira platensis* CNM-CB-02 (spirulina): ZooBioR – 1 plus cu următoarea compoziție per 1 g de talc: extract de aminoacizi și oligopeptide - 5 mg, Zn – 2,5 mg, Se - 25µg și ZooBioR – 2 plus: extract de aminoacizi și oligopeptide - 5 mg; fosfolipide – 3,5 mg; proteoglicani, inclusiv polizaharide sulfatate – 3,5 mg; proteine – 3,5 mg; mixoxantofilă – 0,75 mg, Zn – 2,5 mg, și Se - 25µg. Vierilor reproducători din lotul martor li s-a administrat ratia de bază de nutreț combinat, iar celor din loturile experimentale I și II li s-au administrat suplimentar preparatele ZooBioR – 1plus și respectiv ZooBioR – 2plus a cîte 15g cap/zi pe o perioadă de 50 zile. Materialul spermatic a fost recoltat la începutul și sfârșitul experimentului. În ejaculatele recoltate s-a apreciat volumul materialului spermatic, concentrația spermatozoizilor în ejaculat, mobilitatea lor și viteza de înaintare a spermatozoizilor (VAP - viteza medie, VSL - viteza in linie dreaptă, VCL - viteza curbiliniară), folosind metoda computerizată CEROS.

Rezultate și discuții

Inițial, a fost evaluată influența suplinirii ratiei furajere de bază cu biopreparate cianobacteriene asupra volumului ejaculatelor obținute de la masculii reproducători. În rezultat s-a stabilit că la suplinirea rațiilor de bază a vierilor reproducători cu preparatele ZooBioR 1 plus și ZooBioR 2 plus, volumul ejaculatelor la sfârșitul experimentului în loturile experimentale I și II atinge valori de 209±8,4 ml și 161,8±7,6 ml, ce este cu 37,1 și respectiv 6,1% mai mare comparativ cu martorul unde acest indice a înregistrat o valoare de 152±13,1 ml. Rezultatele sunt prezentate în figura 1.

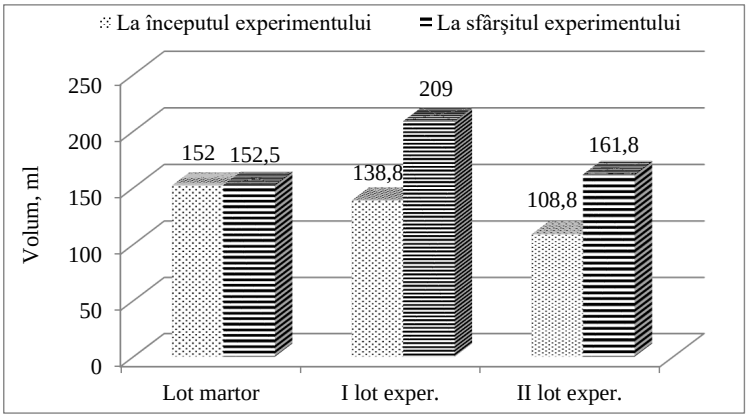


Fig. 1. Volumul ejaculatelor prelevate, în funcție de ratia furajeră administrată.

După cum a fost menționat, spermatogeneza, este influențată de o serie de factori, unul dintre cei mai importanți fiind alimentația. Hrănirea masculilor cu rații echilibrate, duce la obținerea unei sperme de calitate superioară. Concentrația spermatozoizilor fiind un indice important a spermogramei, care caracterizează capacitatea fecundantă a materialului spermatic, este mult influențată de administrarea rațiilor furajere calitative cu conținut echilibrat de substanțe biologic active. Astfel, în continuare a fost studiată influența preparatelor biologic active asupra numărului de spermatozoizi în ejaculate. În rezultat s-a determinat că numărul spermatozoizilor în ejaculatele prelevate de la animalele din loturile experimentale I și II spre finalul experimentului a constituit 0,34±0,03 și respectiv 0,37±0,04 miliarde/ml, ceea ce este cu 21,4 și 32,1% mai mare ca în proba de referință. Rezultatele sunt prezentate în figura 2.

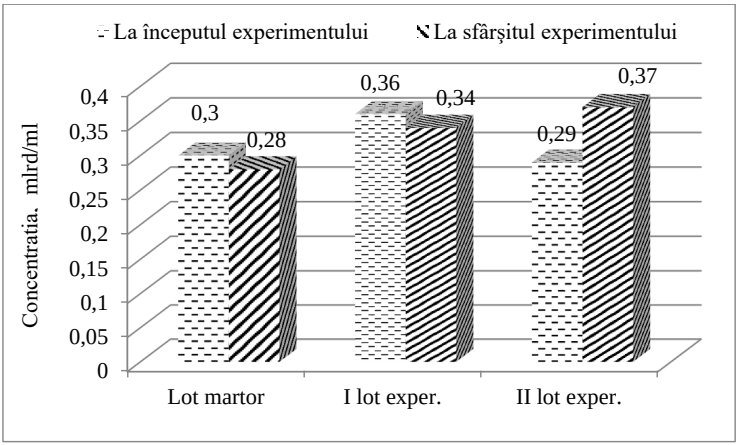


Fig. 2. Concentrația spermatozoizilor în ejaculate, în funcție de rația furajeră administrată.

Mobilitatea reprezintă una din caracteristicile principale ale spermatozoizilor, prin care aceștia se deosebesc de celelalte celule ale organismului animal, și prezintă un indice indispensabil al viabilității lor. Astfel, următorul parametru studiat a fost mobilitatea spermatozoizilor în ejaculatele reproducătorilor furajați cu diferite rații. Rezultatele experimentale, prezentate în figura 3, demonstrează că preparatele biologic active testate în calitate de component suplimentar în rațiile furajere de bază ale vierilor reproducători, influențează pozitiv mobilitatea spermatozoizilor în ejaculate. Cel mai înalt indice a mobilității lor la sfârșitul experienței a fost stabilit în lotul experimental II și a constituit 78,3±3,5 %, în lotul experimental I a fost de 74,0±8,8 %, iar în lotul martor 71,3±1,5 %.

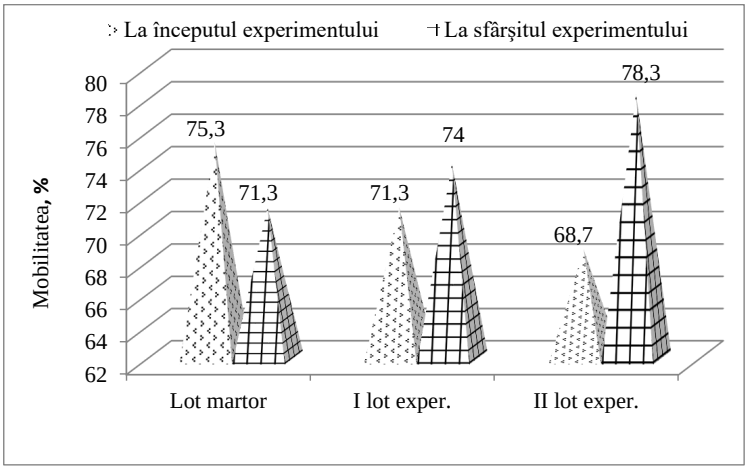


Fig. 3. Mobilitatea spermatozoizilor în ejaculate, în funcție de rația furajeră administrată.

În aprecierea calității spermei se ține cont atât de mobilitate, cât și de viteza de înaintare a spermatozoizilor, determinată prin programe computerizate specializate. Analiza spermei asistată de calculator este o metodă modernă și mult mai eficientă decât metodele convenționale de analiză a calității spermei și a devenit utilă prin capacitatea sa mult mai rapidă de prelucrare a datelor, oportunitatea stocării lor în volum enorm și posibilitatea evaluării concomitente a mai multor indici cum ar fi: – viteza medie VAP, viteza în linie dreaptă VSL și viteza curbiliniară VCL a spermatozoizilor. Deci, în continuare au fost evaluați acești indici importanți ai calității materialului spermatic. Determinarea VAP, în o anumită perioadă de timp, a stabilit că cele mai înalte valori a acestui parametru s-au înregistrat în ejaculatele animalelor din lotul experimental II, la care rațiile de bază au fost suplinite cu ZooBioR 2-plus și a constituit 81,4±4,0 μm/s. În lotul experimental I, VAP a constituit 55,6±1,6 μm/s și a fost mai mică decât în lotul martor. Rezultatele sunt prezentate în figura 4.

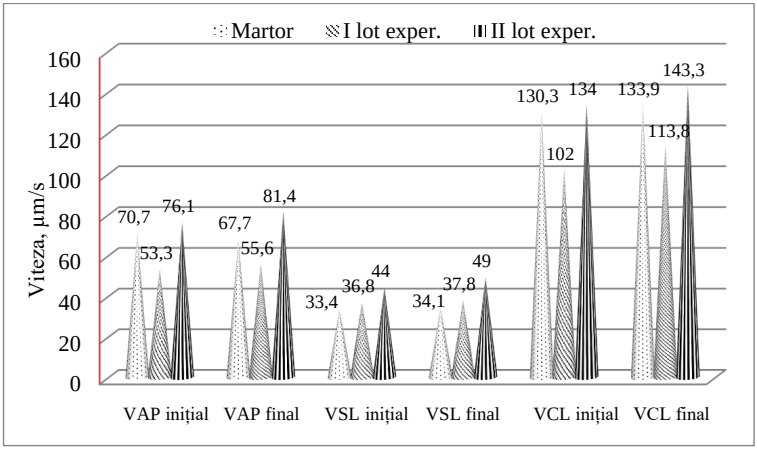


Fig. 4. Viteza de înaintare a spermatozoizilor (VAP, VSL, VCL), în ejaculate, în funcție de rația furajeră administrată.

Parametrii VSL care indică viteza de mișcare în linie dreaptă a spermatozoizilor a fost maximală în lotul experimental II - 49,0±5,4 μm/s, în scădere până la 37,8±0,8 μm/s în lotul experimental I și 34,1±2,1 μm/s. în lotul martor.

Parametrii VCL care determină distanța totală traversată de capul spermatozoidului într-o perioada de timp de asemenea au avut valori maximale în ejaculatele prelevate de la animalele din lotul experimental II - 143,3±6,4 μm/s, cu diminuare până la 133,9±7,8 μm/s. în lotul martor și 113,8 ±4,8 μm/s în lotul experimental I.

Astfel, putem menționa influența pozitivă a biopreparatelor cianobacteriene complexe asupra mobilității și vitezei de mișcare a spermatozoizilor de vieri.

Concluzii

Preparatele cianobacteriene ZooBioR - 1plus și ZooBioR - 2plus, influențează pozitiv volumul ejaculatelor, indicii mobilității, concentrației și vitezei de înaintare a spermatozoizilor materialului seminal și posedă potențial enorm de utilizare în zootehnie, în calitate de supliment biologic activ pentru stimularea spermatogenezei la vieri.

Bibliografie:

1. Bogdan A. T. şicol. – Tratat de reproducţie şi însămînţări artificiale la suine. Bucureşti: Ed. – tehn-agr. 1999, 920p.
2. Igna V. – Însămînţarea artificială la *Canis Familiaris*, Teza de doctorant, USAMVB, Timişoara, 2002.
3. Miclea V. Însămânţarea artificială la animalele de fermă. Ed. Argonaut, Cluj-Napoca, 2003, p.216.
4. Miclea V., Zahăn M. Biologia reproducției și însămânțări artificiale. Lucrări Practice, USAMV Cluj, 2005, p. 254.
5. Miclea V., Zahăn V., Miclea L. Reproducția animalelor de fermă. Ed. Accent, Cluj-Napoca, 2008, p. 241.
6. Nauc V.A. – Crioconservaţia spermî bîcov proizvoditelei. //Crioconservaţia spermî seliscohozeaistvennîh jivotnîh. L. Agropromizdat, 1989. p. 65-102.
7. Zăhan M. Conservarea resurselor genetice în zootehnie. Ed. Accent, 2017, p. 169.
8. Zăhan M., F. Varo-Ghiuru, A. Hettig, I. Miclea, V. Mireşan, I. Roman, V. Miclea,– Improving quality of frozen-thawed Mangalitsa boar semen using. Reprod.Dom.Anim. (Suppl 5), 2012, 47: 115.
9. Антонюк В. С. Биологические способы повышения эффективности оплодотворения сельскохозяйственных животных Минск «Урожай», 1988, с. 195.
10. Сердюк С. И. Искусственное осеменение в промышленном свиноводстве. Москва «Колос». 1977, с. 158.
11. Сидоркин В.А., Гавриш В.Г., Угунова А.В., Убираев С.П. Болезни свиней/Под общей редакцией В.А. Сидоркина. М.: ООО «Аквариум-Принт», 2007, p. 182-184.

INFLUENȚA EXTRACTULUI MANOPROTEIC DIN LEVURILE DE BERE ASUPRA CONSERVĂRII MATERIALULUI SEMINAL DE BERBEC

https://doi.org/10.52757/imb21.068

Rotari Doina[1], Darie Grigore[1], Chiselița Oleg[2], Djenjera Irina[1], Bradu Nina[1], Chiselița Natalia[2], Beşliu Alina[2]

[1]*Institutul Stiintifico Practic de Biotehnologii în Zootehnie și Medicină Veterinară, rl. Anenii Noi, s. Maximovca, Chisinau, Republica Moldova*

[2]*Institutul de Microbiologie si Biotehnologie, Chisinau, Republica Moldova*

email: plescadoina@mail.ru

Rezumat

Scopul cercetărilor a constat în evaluarea influenței extractului manoproteic asupra conservării prin refrigerare a materialului seminal de berbec și perfecționarea protocolului de conservare a spermei. Materialul biologic utilizat a fost obținut cu ajutorul vaginei artificiale, de la berbeci din rasa Karakul tip moldovenesc.

După diluarea materialului seminal s-au apreciat indicii mobilității, procentul spermatozoizilor cu mișcări rectilinii, viteza de înaintare a spermatozoizilor (VAP, VSL, VCL) după care sperma diluată a fost stocată la temperatura de +2-+4ºC. Testarea calității spermei pe durata stocării s-a efectuat la interval de 24 ore.

Datele experimentale obținute au demostrat că preparatul manoproteic manifestă acțiune antioxidantă, de stabilizare a membranelor celulare și oferă spermatozoizilor o protecție suplimentară, contribuind astfel la menținerea indicilor calitativi ai spermei pe durata stocării la temperatura de refrigerare. S-a demonstrat că preparatul manoproteic nu este toxic pentru spermatozoizi în diapazonul concentrațiilor studiate, iar cele mai bune rezultate au fost obținute după 120 ore de stocare la temperatura +2-+4ºC, când concentrația preparatului introdus ca component suplimentar în mediul comercial a fost de 0,6-0,8% (mobilitatea de 66,3±5,8%) și de 0,7% (mobilitatea 67,5±4,6%). S-a demonstrat și sporirea procentului de spermatozoizi cu mișcări rectilinii după 120 ore de stocare prin refrigerare, comparativ cu lotul martor.

În rezultatul cercetărilor efectuate se propune mediul de protecție nou pentru conservarea spermei de berbec prin refrigerare cu următoarea compoziție: Zaharoză-6,4 %; Citrat de sodiu-0,6%; Gălbenuș de ou-10%/V; preparat manoproteic -0,6-0,8%/V; Apă bidistilată pina la 100ml.

Introducere

Răspândirea pe scară largă a însămânțărilor artificiale se datorește în cea mai mare măsură posibilităților de diluare și conservare a spermei. Însămânțarea femelelor se face numai cu spermă diluată și conservată [2,4].

Conservarea spermei prin refrigerare se realizează la temperatura de + 2 -+ 4 °C. Prin această metodă spermatozoizii, de regulă, își mențin puterea fecundantă 24- 48 ore [2].

Cercetările privind elaborarea mediilor de protecție pentru conservarea eficientă a materialului seminal de berbeci prin refrigerare are importanță practică maopră, deoarece tehnicile de conservare la temperatura de refrigerare sunt cele mai intens utilizate la această specie [1].

Mediile de protecție servesc și ca diluanți pentru reducerea concentrației spermatozoizilor și păstrarea capacității lor fecundante. Totodată pe lângă reducerea concentrației spermatozoizilor, diluarea urmărește și păstrarea unui volum optim a dozei de inoculare.

Prin amestecarea ejaculatului cu diluantul, care conține substanțe cu rol de protecție și susținere a metabolismului spermatozoizilor, este menținută și fertilitatea acestora. Deci, succesul conservării spermatozoizilor depinde de mediul de protecție, care trebuie să conțină substanțe ce protejează spermatozoizii de șocul termic la căderea temperaturii [3,5,6,7].

Dumitrescu I. și col. (1978) prin cercetările efectuate a stabilit că cele mai bune medii de protecție trebuie să îndeplinească o serie de condiții: să conțină substanțe care să favorizeze metabolismul și mobilitatea spermatozoizilor; să conțină substanțe coloidale care să protejeze membranele spermatozoizilor; să conțină substanțe tampon care să mențină un pH favorabil

spermatozoizilor. Aceste substanțe sunt de o deosebită importanță pentru diluantii folosiți la sperma de berbec, care din cauza concentrației înalte în spermatozoizi au metabolism ridicat ceea ce duce la creșterea acidității mediului [2].

Mediile de protecție, folosite pentru diluarea spermei, la majoritatea speciilor conțin substanțe care contribuie la menținerea puterii fecundante a spermatozoizilor.

Astfel, scopul cercetărilor constă în evaluarea influenței extractului manoproteic din levurile de bere asupra conservării prin refrigerare a materialului seminal de berbec.

Material și metode

Cercetările experimentale au fost efectuate în cadrul Institutului Științifico Practic de Biotehnologii în Zootehnie și Medicină Veterinară. Obiectul de cercetare a fost sperma de berbec recoltată prin metoda vaginei artificiale. După recoltarea ejaculatelor, prin metoda macroscopică, a fost analizat volumul lor, iar prin cea microscopică, cu utilizarea programului computerizat CEROS, mobilitatea, procentul de spermatozoizi cu mișcări rectilinii, numărul spermatozoizilor cu anomalii și viteza de înaintare a spermatozoizilor (VAP - viteza medie, VSL - viteza in linie dreaptă, VCL - viteza curbiliniară). Pentru prelucrare au fost admise ejaculatele cu volumul nu mai mic 1,0 ml, mobilitatea de minim 70 % și concentrația spermatozoizilor nu mai mică de 2,5 mlrd/ml. Ejaculatele admise pentru prelucrare au fost împărțite în două loturi. Lotul martor, la care pentru conservare s-a folosit mediul de protecție martor (MPM) compus din zaharoză 6,4%, citrat de sodiu 0,6%, galbenuș de ou 10%, apă bidistilată până la 100 ml și lotul experimental la care pentru conservare s-a utilizat mediul de protecție experimental (MPE) compus din zaharoză-6,4%, citrat de sodiu- 0,6%, galbenus de ou 10%, preparat manoproteic (PM) în concentrații de 0,6; 0,7; și 0,8%/V, apă bidistilată până la 100 ml. Preparatul manoproteic cu concentrația de 500 mg/ml a fost obținut la Institutul de Microbiologie și Biotehnologie din biomasa de levuri din deșeurile microbiene semilichide, oferite de fabrica de bere Kellers com. Budești, mun. Chișinău

După determinarea indicilor fiziologici și morfologici loturile cu spermă diluată au fost introduse în frigider cu temperatura de + 2- + 4 °C. Aprecierea indicilor luați în studiu s-a efectuat la interval de 24 ore până când mobilitatea a fost nu mai joasă de 65-70%.

Determinarea formelor patologice în spermă s-a efectuat prin determinarea numărului de spermatozoizi cu aspect anormal în rezultatul examenului morfologic. Valoarea acestui indice a fost studiată prin metoda microscopică utilizând microscopul (x400-600 mărire). Pentru calcularea formelor anormale pe un frotiu au fost analizate 200-300 de spermatozoizi folosind formula $X=\frac{nx100}{N}$ unde:

n - Numărul spermatozoizilor patologici;

N - Numărul total de spermatozoizi analizați.

Calitatea viziunii a fost obținută prin folosirea coloranților sau al Invertorului special care este în componența complexului microscopului (adaptorul fotocontrast, condensorul cu câmp întunecat).

Analiza statistică a datelor experimentale s-a efectuat cu utilizarea setului *Microsoft Excel*.

Rezultate și discuții

Metoda de conservare a spermei de berbec prin refrigerare este bazată pe utilizarea mediilor de protecție, pentru menținerea calității spermei pe o durată maximă de timp, păstrând mobilitatea și capacitatea fecundantă a spermatozoizilor stocați în frigider la temperatura de + 2 -+ 4 °C.

Procesul de conservare a spermei de berbec prin refrigerare, în calitate de element obligatoriu, include scăderea temperaturi optimale de menținere a indicilor vitali ai spermatozoizilor. Reieșind din cele expuse a fost studiată influența mediilor de protecție asupra mobilității spermatozoizilor și numărului de spermatozoizi cu mișcare rectilinie pe durata stocării materialului seminal la + 2 -+ 4 °C.

În rezultat, s-a stabilit că după diluare cu MPM, mobilitatea spermatozoizilor a fost de 81,3±4,5%, iar la utilizarea MPE, în care concentrația PM a variat de la 0,6 până la 0,8 %, a

constituit 91,8±0,8 și respectiv 92,5±1,3%, ce este cu 12,9-13,8% mai mult comparativ cu valoarea de referință. Numărul de spermatozoizi cu mișcări rectilinii în lotul martor a fost de 39,3±2,3%, iar în cele experimentale de 51,8%, sau cu 31,8% mai mult, ceea ce demonstrează că PM oferă spermatozoizilor protecție în procesul amestecului ejaculatului cu mediul de diluție.

Pe perioada stocării materialului seminal la + 2- + 4 °C timp de 120 ore mobilitatea spermatozoizilor în MPM a diminuat până la 52,0±6,0%, iar numărul de spermatozoizi cu mișcări rectilinii până la 12,5±3,0%, indici, care nu permit utilizarea materialului seminal refrigerat pentru însămânțarea artificială a ovinelor. În variantele MPE, mobilitatea spermatozoizilor în funcție de concentrația PM, a constituit 66,3-68,0%, iar numărul de spermatozoizi cu mișcări rectilinii 18,5-25,3%, ce este cu 27,5-30,8% și, respectiv cu 48,0-102,4% mai mult ca în martor, indici, care conform standardelor din domeniu, permit însămânțarea artificială a ovinelor aflate în perioada de călduri a ciclului sexual. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 1.

Tabelul 1. Indicii de mobilitate a spermatozoizilor de berbeci inițial și după 120 ore de păstrare pe diferite medii de protecție la temperatura de + 2 - + 4 °C

Mediul protector		**După diluare**				**La 120 de stocare**			
		SM, % inițial	SM, % martor	SMR, % inițial	SMR, % martor	SM, % inițial	SM, % martor	SMR, % inițial	SMR, % martor
MPM		81,3±4,6	100	39,3±2,3	100	52,0±6,0	100	12,5±3,0	100
MPE	+0,6% PM	91,8±0,8	112,9	51,8±2,9	131,8	66,3±5,8	127,5	18,5±6,0	148
	+0,7% PM	92,5±1,3	113,8	51,8±2,2	131,8	67,5±4,6	129,8	22,3±7,6	178,4
	+0,8% PM	92,5±1,3	113,8	51,8±2,9	131,8	68,0±5,8	130,8	25,3±7,7	202,4

SM-spermatozoizi mobile;
SMR-spermatozoizi cu mișcare rectilnie.

În componența mediilor de protecție pentru diluarea și conservarea spermei prin refrigerare pot fi incluse substanțe protectoare de diversă natură. În același timp, este necesar de a ține cont de faptul, că acestea, în pofida proprietăților protectoare, pot produce și efecte negative, modificând morfologia spermatozoizilor. În această ordine de idei, un indice foarte important în tehnologia conservării este evaluarea parametrilor morfologici ai spermatozoizilor în prezența acestor substanțe. Astfel, în continuare s-a determinat numărul de spermatozoizi cu anomalii în materialul seminal diluat cu diferite medii de protecție.

În rezultat, s-a fost stabilit că în MPE, indiferent de concentrația PM, numărul spermatozoizilor cu anomalii a fost mai mic ca în MPM, după 120 ore de stocare, în cazul utilizării PM în concentrație de 0,8%/V, a constituit 16,8%, fiind cu 10,6% mai mic față de martor, indici ce se încadrează în limitele GOST 32700-2013. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 2.

Tabelul 2. Numărul spermatozoizilor de berbeci cu anomalii inițial și după 120 ore de păstrare pe diferite medii de protecție la temperatura de + 2 - + 4 °C

Mediul protector		**După diluare**		**La 120 ore de stocare**	
		Anomalii, % initial	Anomalii, % martor	Anomalii, % initial	Anomalii, % martor
MPM		11	100	18,8	100
MPE	+0,6% PM	8,9	80.9	18,3	97,3
	+0,8% PM	8,9	80.9	16,8	89,4

Astfel, putem menționa că cele mai optime rezultate, referitor la menținerea integrității morfologice a spermatozoizilor pe durata stocării timp de 120 ore la + 2 -+ 4 °C, pot fi obținute la utilizarea PM în concentrație de 0,8%/V, în calitate de supliment la mediul de protecție, pentru diluarea și conservarea materialului seminal de berbeci prin refrigerare.

Optimizarea mediului de protecție prin introducerea în componența acestuia a PM modifică esențial mobilitatea și morfologia spermatozoizilor de berbec conservați prin refrigerare, păstrând acești indici la nivelul cerințelor în vigoare.

Paralel cu studierea formelor patologice au fost studiați și indicii vitezei de înaintare a spermatozoizilor (VAP - viteza medie, VSL - viteza in linie dreaptă, VCL - viteza curbiliniară), folosind metoda computerizată CEROS.

Datele experimentale prezentate în tabelul 3, demonstrează că imediat după diluarea materialului seminal, VAP a spermatozoizilor atât în loturile experimentale cat și în lotul martor nu se deosebea esențial. După 120 ore de stocare la + 2 -+ 4 °C, în lotul martor viteza medie de înaintare a diminuat de la 132,9±5,9 la 73,1±2,0 µm/s, iar în loturile experimentale rezultatele maximale s-au obținut când materialul seminal a fost diluat cu mediul de protecție suplimentat cu PM în concentrație de 0,8%/V, viteza medie de înaintare fiind cu 9,8% mai mare comparativ cu martorul.

Tabelul 3. Viteza medie de înaintare a spermatozoizilor (VAP) inițial și după 120 ore de păstrare pe diferite medii de protecție la temperatura de + 2 - + 4 °C

Mediul protector		**După diluare**		**La 120 ore de stocare**	
		VAP, µm/s	VAP, % la martor	VAP, µm/s	VAP, % la martor
MPM		132,9±5,9	100	73,1±2,0	100
MPE	+0,6% PM	133.1±6,7	100,1	76,7±5,4	104,9
	+0,7% PM	136,6±2,7	102,8	76,4±6,9	104,5
	+0,8% PM	130,9±2,8	98,5	80,3±9,4	109,8

Concomitent cu studiul vitezei medii de înaintare a spermatozoizilor a fost studiată și viteza spermatozoizilor în linie dreaptă (VSL). VSL măsoară distanța în linie dreaptă parcursă de spermatozoizi de la un punct la altul într-o perioadă de observație.

Analiza rezultatelor, prezentate în tabelul 4, demonstrează că includerea în componența mediului de protecție a PM, permite menținerea VSL după 120 ore de stocare la + 2 -+ 4 °C la un nivel cu 3,3-17,5 % mai înalt comparativ cu proba de referință, în funcție de concentrația utilizată.

Tabelul 4. Viteza medie în linie dreaptă a spermatozoizilor (VSL) inițial și după 120 ore de păstrare pe diferite medii de protecție la temperatura de + 2 - + 4 °C

Mediul protector		**După diluare**		**La 120 ore de stocare**	
		VSL, µm/s	VSL, % la martor	VSL, µm/s	VSL, % la martor
MPM		109,9±6,7	100	54,8±0,6	100
MPE	+0,6% PM	110,4±5,6	100,5	56,6±6,6	103,3
	+0,7% PM	112,1±3,9	102	58,2±7,5	106,2
	+0,8% PM	106,6±2,5	97	64,4±9,0	117,5

Referitor la viteza curbiliniară (VCL), care reprezintă distanța totală parcursă de capul spermatozoidului in perioada de observatie, având cea mai mare valoare numerică dintre cele trei viteze măsurate, putem remarca ca valorile acestui indice atât după diluare, cât și după 120 ore de stocare au variat la nivelul martorului (tabelul 5).

Tabelul 5. Viteza curboliniară a spermatozoizilor (VCL) inițial și după 120 ore de păstrare pe diferite medii de protecție la temperatura de + 2 - + 4 °C

Mediul protector		**După diluare**		**La 120 ore de stocare**	
		VCL, µm/s	VCL, % la martor	VCL, µm/s	VCL, % la martor
MPM		192,8±9,4	100	137,6±6,1	100
MPE	+0,6% PM	191,0±10,0	99,1	133,0±7,6	96,7
	+0,7% PM	205,4±7,2	106,5	132,0±11,3	95,9
	+0,8% PM	196,6±7,6	102	136,7±12,9	99,3

Prin urmare, suplinirea mediului de protecție, destinat conservării materialului seminal de berbeci, cu PM în concentrație de 0,6-0,8 %/V, influențează pozitiv viteza medie – VAP, viteza de mișcare in linie dreaptă – VSL și nu afectează viteza de mișcare curbiliniară – VCL a spermatozoizilor, pe durata conservării materialului seminal de berbeci prin refrigerare.

Concluzii

1. Suplinirea mediului de protecție cu preparat manoproteic (PM) în concentrație de 0,6-0,8 %/V duce la majorarea semnificativă a numărului de spermatozoizi mobili cu 27,5-30,8%, a numărului de spermatozoizi cu mișcare rectilinie cu 48,0-102,4% și diminuarea cu până la 10,6% a numărului de spermatozoizi cu diverse anomalii, comparativ cu martorul.
2. În aceleași concentrații, prepartul manoproteic, influențează pozitiv viteza medie – VAP, viteza de mișcare in linie dreaptă – VSL și nu afectează esențial viteza de mișcare curbiliniară – VCL a spermatozoizilor, pe durata conservării materialului seminal de berbeci prin refrigerare.
3. Utilizarea preparatului manoproteic, obținut din biomasa de levuri din deșeurile industriei de bere, în calitate de supliment la mediiul de protecție în concentrație de 0,6-0,8%/V, permite majorarea perioadei de conservare prin refrigerare a materialului seminal de berbeci, fără diminuarea indicilor principali ai spermogramei sub limita standardelor, pe durata a 120 ore de stocare.
4. Pentru conservarea prin refrigerare și păstrarea eficientă a materialului seminal de berbec, pe durata a 120 ore, se propune un mediu de protecție nou cu următoarea compoziție: zaharoză - 6,4%, citrat de sodiu - 0,6%, galbenuș de ou - 10%, preparat manoproteic (PM) - 0,6 - 0,8%/V, apă bidistilată până la 100 ml.
5. Rezultatele obținute, vor contribui la optimizarea metodelor și mediilor de protecție pentru conservarea și utilizarea eficientă a genofondului animal de interes zootehnic.

Bibliografie:

1. Dascăl Anca-Valentina. Cercetări privind conservarea prin refrigerare a spermei de berbec provenită de la rasele Suffolc, Laitier Belge și Țigaie. Rezumat al tezei de doctorat, Cluj-Napoca 2009, 52 p.
2. Dumitrescu I. și col. Însămânțări artificiale la animale. Editura Ceres, București 1978, 358 p.
3. Lopez-Saez A. N. ordiz I. Gallego, J.J. Garde, Liquid Storage (5ºC) of ram semen in deferent diluents. Archieves of Andrology. 2000, p.155-164.

4. Milovanov V.C. Биология воспроизведения и искусственное осеменение сельскохозяйственных животных. Москва 1962, 695 с.
5. Miclea V. Însămânțarea artificială la animale de fermă. Editura Argonaut, Cluj-Napoca, 2003, 209 p.
6. Miclea V., Zăhan M., Biologia reproducerii și însămânțării artificiale, Lucrări Practice, USAMV Cluj, 2005, 105 p.
7. Paulenz H.I, Soderquist R., Perez-Pe, K. A. Berg, Effect of different extenders and storage temperatures on sperm viability of liquid ram semen. Theriogenology. 2002, p. 823-836.

Rezultatele au fost obținute în cadrul Proiectului 20.80009.5107.16. „Preparate microbiene biologic active noi pentru majorarea potenţialului reproductiv şi productiv al animalelor de interes zootehnic”, finanțat de ANCD.

ACTIVITATEA ANTIFUNGICĂ A MICROMICETELOR DUPĂ PĂSTRARE ÎN STARE LIOFILIZATĂ IN DEPENDENȚĂ DE MEDIUL DE REHIDRATARE

https://doi.org/10.52757/imb21.069

Timuș Ion
Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Republica Moldova
e-mail: timus_ion@mail.ru

Abstract

A possibility of using Fe_2O_3 and Fe_2ZnO_4 nanoparticles in the composition of the rehydration media for 11 strains of micromycetes of the genera *Penicillium* and *Trichoderma* was studied. The main monitored parameter was the antifungal activity of micromycetes against some phytopathogens. It was found that the presence of these nanoparticles in the rehydration media of the micromycetes did not significantly change their antifungal activity. Additional studies are needed to determine the effect of the presence of the nanoparticles in the rehydration medium on the antifungal properties.

***Key words*:** micromycetes, nanoparticles, rehydration medium, antifungal activity.

Introducere

Utilizarea industrială a microorganismelor ca agenți biotehnologici pentru obținerea unei game largi de produse utile impune conservarea acestora, adică menținerea viabilității, stabilității genetice, purității și implicit a capacității lor bioproductive. În aceste scopuri se utilizează diferite metode de conservare a microorganismelor, care pot influența o serie de caracteristici ale microorganismelor, în special potențialul bioproductiv al acestora. Din numărul mare de metode utilizate pentru depozitarea și conservarea microorganismelor pe termen lung mai eficiente sunt crioconservarea și liofilizarea. Aceste metode sunt aplicate în Colecţiile de Microorganisme din diferite ţări ale lumii [2, 14-17].

Uscarea prin congelare sau liofilizarea este o metodă eficientă de uscare a materialelor biologice fără a le provoca daune majore. Esența metodei constă în evaporarea apei din probele congelate, evitând starea lichidă [10]. Liofilizarea este folosită pentru conservarea majorității bacteriilor, drojdiilor si fungilor. Această metodă de conservare asigură inhibarea activității enzimelor și a proceselor vitale ale microorganismelor pe o durată îndelungată de timp fără a prejudicia componentele celulare.

Viabilitatea culturilor microbiene liofilizate diferă de la gen la gen în dependență de condiţiile iniţiale de cultivare, faza de dezvoltare ontogenetică, poziția sistematică a microorganismului, concentraţia materialului iniţial, componenţa mediului protector, natura şi durata stresului declanșat la congelare și uscare. Un factor important în eficientizarea metodei de liofilizare a microorganismelor este standardizarea mediilor de protecție și celor de rehidratare a culturilor, care se folosesc la etapa de congelare și la etapa de revitalizare a culturii respectiv [1, 12, 22, 23].

Rehidratarea microorganismelor liofilizate, este ultima treaptă pentru revitalizarea celulelor după uscare. Ca și în cazul mediilor de protecție, avem un spectru larg de medii de rehidratare cu diferite nivele de eficiență. S-a demonstrat experimental că viabilitatea crește dacă potrivim corect soluția de rehidratare cu mediul de protecție. Mediile complexe de rehidratare au un rol important la repararea celulelor deteriorate prin furnizarea de substanțe nutritive suplimentare și componente esențiale pentru celulele care au fost conservate. Temperatura mediului de rehidratare, de asemenea este un factor important, ce influențează recuperarea celulelor după liofilizare. Pe durata rehidratării au loc mai multe procese, cum ar fi absorbția apei în materialul uscat, atingerea punctului de turgescență de către celule și solubilizarea substanțelor solubile în apă. Eficiența rehidratării depinde de gradul de afectare a structurilor celulare și de modificările chimice cauzate de deshidratare [20, 19, 22].

Un domeniu nou al ştiinţei moderne este nanotehnologia. Nanoparticulele, datorită dimensiunilor mici şi proprietăţile fizice, chimice, magnetice, optice şi biologice deosebite, sunt

capabile să pătrundă în microstructuri, să se acumuleze pe suprafaţa celulelor sau să penetreze peretele şi membrana celulară, modificând astfel funcţionalitatea sistemelor biologice. Astfel, un interes deosebit este orientat în prezent spre identificarea de noi aplicaţii ale nanoparticulelor metalice în diverse domenii: medicină, agricultură, ecologie, industria alimentară, etc. Publicaţiile din ultimii ani demonstrează efectul nanoparticulelor asupra viabiltăţii, dezvoltării şi proceselor biosintetice la microorganisme. A fost demonstrat, că cu ajutorul nanoparticulelor introduse în mediul de cultivare a microorganismelor se pot modifica particularităţile morfologice ale acestora şi stimula procesele biosintetice, obţinându-se astfel produsul microbian preconizat de o cantitate si calitate înaltă [3-9, 24].

Scopul cercetărilor a constat în stabilirea posibilităţii de utilizare a nanoparticulelor de Fe_2O_3 şi Fe_2ZnO_4 în procesul de rehidratare a micromicetelor păstrate în stare liofilizată în calitate de stabilizatori ai acţiunii lor antifungice.

Material şi metode

În calitate de obiecte de studiu au fost utilizate 11 tulpini de micromicete din genurile *Penicillium* (6) şi *Trichoderma* (5), depozitate în CNMN şi care posedă proprietăţi antifingice faţă de fungii fitopatogenii: *Aspergillus niger; Alternaria alternata, Botrytis cinerea, Fusarium solani, Fusarium oxysporum.*

Pentru rehidratarea culturilor liofilizate s-a utilizat trei variante de mediu: Martor – apă distilată; apă distilată + 0,1 mg/l NP Fe_2O_3; apă distilată + 0,1mg/l NP Fe_2ZnO_4. Nanoparticulele Fe_2O_3 cu dimensiunea de 2-10 nm, şi cele de Fe_2ZnO_4 cu dimensiunea de 8-15 nm. Nanoparticulele de Fe_2O_3 şi Fe_2ZnO_4 au fost sintetizate de către cercetătorii Institutului de Chimie.

Rehidratarea culturilor s-a realizat în următorul mod: în fiecare flacon cu cultura liofilizată a fost introdus câte 1 ml apă distilată, sterilă, sau una din soluţiile cu nanoparticule. Rehidratarea a fost efectuată la temperatura de 28ºC timp de 2 ore. După aceasta conţinutul flacoanelor a fost inoculat în cutii Petri pe mediul Czapek. Cultivarea micromicetelor s-a efectuat în thermostat la tempetarura de 28ºC.

Proprietăţile antimicrobiene au fost studiate conform metodei difuzimetrice, prin utilizarea blocurilor de geloză [21]. Metoda este bazată pe capacitatea de difuziune a metaboliţilor produşi de microorganismele studiate în profunzimea agarului şi a acţiunii substanţei active din zona de difuzie asupra culturilor fitopatogene.

Prelucrarea statistică a datelor a fost efectuată cu ajutorul programului MS Office Excel 2010.

Rezultate şi discuţii

Rezultatele prezentate în Fig. 1 demonstrează că, suplimentarea nanoparticulelor Fe_2O_3 în mediul de rehidratare a tulpinilor liofilizate de *Penicillium* nu modifică semnificativ proprietăţile antifungice ale acestora. Activitatea antifungică în varianta în care tulpinile liofilizate au fost rehidratate cu H_2O+1mg/l NP de Fe_2O_3 nu diferă semnificativ de activitatea antifungică în varianta în care acestea au fost rehidratate cu H_2O (martor). Astfel, activitatea antifungică a tulpinilor de *Penicillium* în variantele cu nanoparticule comparativ cu varianta martor variază în limitele ± 5%. O stimulare mai semnificativă a activităţii antifungice faţă de unii fitopatogeni, comparativ cu martorul, a fost înregistrată în cazul tulpinii *P. funiculosum* FP 01 faţă de *Botrytis cinerea (*diametrul zonei de inhibiţie constituind 107,41% comparativ cu martorul) şi a tulpinii *P corylophilum* FP 04 faţă de *Alternaria alternate (*diametrul zonei de inhibiţie a fitopatogenului a fost 106,9% faţă de martor).

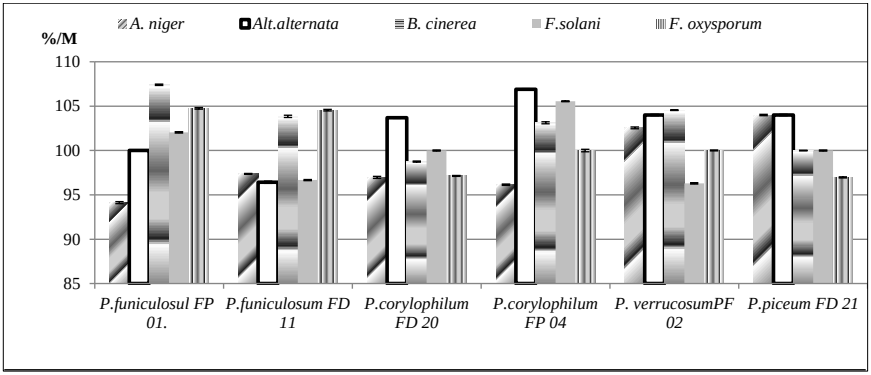


Fig. 1. Activitatea antifungică a tulpinilor de *Penicillium* rehidratate cu H_2O + 0,1mg/l NP Fe_2O_3.

La utilizarea în calitate de mediul de rehidratare a H_2O + 1mg/l NP Fe_2ZnO_4, activitatea antifungică a tulpinilor de *Penicillium* de asemenea nu diferă mult de varianta martor (H_2O) (Fig. 2). Activitatea antifungică față de fitopatogenii testați variază, de asemenea, în limitele ± 5% față de varianta martor. O stimulare mai semnificativă (107,41% față de martor) fiind înregistrată numai la tulpina *P. corylophilum* FD 20 față de *Alternaria alternata.*

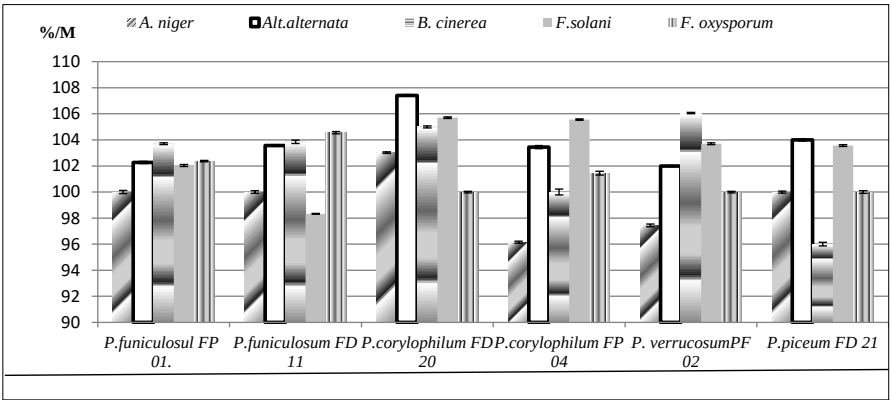


Fig. 2. Activitatea antifungică a tulpinilor de *Penicillium* rehidratate cu H_2O + 0,1mg/l NP Fe_2ZnO_4.

Tulpinile de micromicete din genul *Trichoderma*, utilizate în acest studiu, sunt cunoscute ca producători de substanțe valoroase pentru utilizare în agricultură [11, 13, 18, 25].

După păstrarea de lungă durată în stare liofilizată micromicetele din acest gen au fost rehidratate cu utilizarea acelorași trei variante de mediu ca și în cazul anterior. În Fig.3 sunt prezentate rezultatele obținute în cercetările efectuate privind activitatea antifungică a tulpinilor de *Trichoderma* rehidratate H_2O + 1mg/l NP Fe_2O_3 față de varianta martor, în care rehidratarea culturilor a fost efectuată cu aplicarea apei distilate.

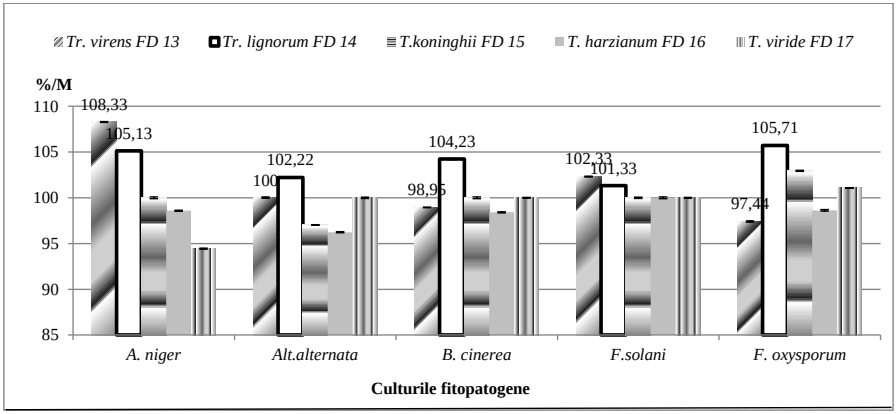


Fig. 3. Activitatea antifungică a tulpinilor de micromicete din genul *Trichoderma* rehidratate cu H_2O + 1 mg/l NP Fe_2O_3.

Rezultatele obținute au demonstrat că, prezența nanoparticulelor de Fe_2O_3 în mediul de rehidratare a tulpinilor liofilizate din genul *Trichoderma* nu modifică semnificativ activitatea antifungică a acestora față de fitopatogenii testați comparativ cu utilizarea în calitate de rehidratant a apei distilate. Astfel, activitatea antifungică a tulpinilor luate în studiu a fost în limitele variantei martor cu mici devieri în limitele ± 5%. Stimulări mai semnificative a activității antifungice au fost înregistrate numai în cazul tulpinii *Tr. virens* față de *A. niger*, diametrul zonei de inhibiție a fitopatogenului în acest caz depășind martorul cu 8,3%.

La utilizarea nanoparticulelor de Fe_2ZnO_4, în concentrație de 0,1 mg/l, în mediul de rehidratare a micromicetelor din genul *Trichoderma*, de asemenea nu au fost înregistrare modificări semnificative a activității antifungice, comparativ cu varianta în care a fost utilizată apa distilată (Fig. 4).

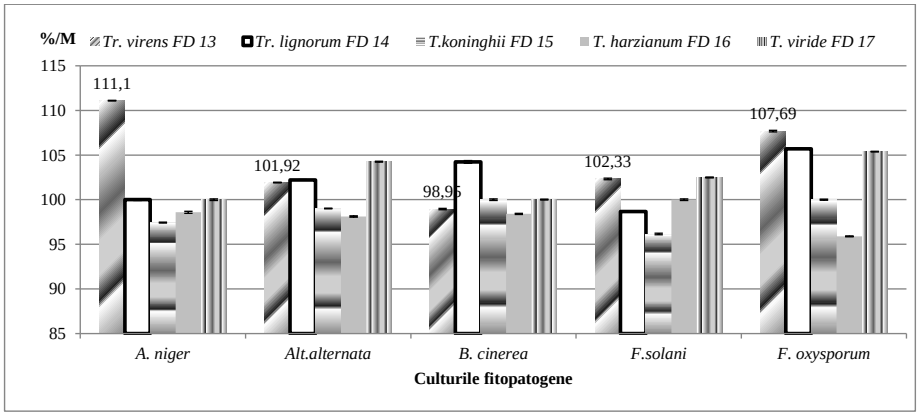


Figura 4. Activitatea antifungică a tulpinilor de *Trichoderma* rehidratate cu H_2O + 1mg/l Fe_2ZnO_4.

Activitatea antifungică a tulpinilor de *Trichoderma*, luate în studiu, față de fitopatogenii testați a variat în limitele ± 5% față de varianta martor. Numai în cazul tulpinii *Tr. virens* FD 13, în

varianta cu utilizarea în calitate de mediul de rehidratare a NP de Fe_2ZnO_4, a fost înregistrată o activitate antifugică mai înaltă față de *A. niger* și *F. oxysporum*. Zona de inhibiție a fitopatogenului *A. niger* a depășit martorul cu 11,1%, iar zona de inhibiție a fitopatogenului *F. oxysporum* – cu 7,7%.

Concluzii

Nanoparticulele de Fe_2O_3 sau Fe_2ZnO_4, în concentrație de 0,1 mg/l, suplimentate în mediul de rehidratare a tulpinilor liofilizate, ce aparțin genurilor *Penicillium* și *Trichoderma,* nu modifică semnificativ activitatea antifungică a acestora față de fitopatogenii.

Pentru a evidenția influența prezenței nanoparticulelor studiate în mediile de rehidratare a micromicetelor după liofilizare în scopul manifestării proprietăților antifungice sunt necesare cercetări suplimentare, care vor implica diferite concentrații de nanoparticule, includerea unui martor pozitiv – suspensie de nanoparticule – în scopul excluderii efectului direct al acestora și alți factori, care ar putea influența activitatea biologică specifică a micromicetelor.

Bibliografie:

1. Adams G. The principles of freeze-drying. Methods Mol. Biol. 2007; 368, pp.15–38. DOI: 10.1007/978-1-59745-362-2_
2. Bircher Lea, Annelies Geirnaert , Christophe Lacroix, Clarissa Schwab. Effect of cryopreservation and lyophilization on viability and growth of strict anaerobic human gut microbes. Microb Biotechnol. 2018 Jul; 11(4), pp. 721–733. doi: 10.1111/1751-7915.13265
3. Cepoi L., Gutsul T., Miscu, V., Rudi, L., Iaţco, I., Chiriac, T., Todosiciuc, A. Antioxidant activity of the system astaxanthine-nano Ag. NANO-2011. În: Coperation and Networking of Universities and Reseach. Abstract Book, Kishinev, 2011, p.15.
4. Chen Z, Meng H., Xing G., Chen C., Zhao Y., Jia G., Wang T., Yuan H., YE C., Zhao F., Chai Z., Zhu C., Fang X., Ma B., Wan L. Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. În: Toxicology Letters. 2006, v.163, pp. 109–120.
5. Chirilă A., Alexandru O. Doma, Romeo T. Cristina. Aplicații ale nanotehnologiei în biomedicină. Applications of nanotechnology in biomedicine. Medicamentul Veterinar / Veterinary Drug, Vol. 8 (1), 2014, p. 12-27.
6. Chiseliţa N. Influența nanoparticulelor ZnO asupra tulpinii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 în condiții de stres alcoolic. Buletinul AȘM. Ştiinţele vieţii. 1(331), 2017, p.124 – 132
7. Farzana R, Iqra P, Shafaq F, Sumaira S, Zakia K, et al. Antimicrobial Behavior of Zinc Oxide Nanoparticles and β-Lactam Antibiotics against Pathogenic Bacteria. În: Arch Clin Microbiol. 2017, Vol. 8 No. 4, p.57. Doi:10.4172/1989-8436.10005.
   https://detsky-lektory.ru/work/954160/SHtammy-gribov-roda-trichoderma
8. Kitching M. et al. Fungal biosynthesis of gold nanoparticles: mechanism and scale up. În: *Microbial biotechnology*, 2014, p. 1-14. 17.
9. Kotzybik K., et all. Influence of different nanomaterials on growth and mycotoxin production of *Penicillium verrucosum*. In: PLOS, Published: March 14, 2016. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150855.
10. Kunal A. Gaidhani, Mallinath Harwalkar, Deepak Bhambere, Pallavi S. Nirgude. Lyophilization/freeze drying – A review *in* World Journal of Pharmaceutical Research 2015, 4(8), pp.516-543.
11. Laith Khalil Tawfeeq Al-Ani Trichoderma: Beneficial Role in Sustainable Agriculture by Plant Disease Management. Plant Microbiome: Stress Response, 2018, V. 5, pp. 105-126.
12. Miyamoto-Shinohara Y, Sukenobe J, Imaizumi T, Nakahara T. Survival of freeze-dried bacteria. J Gen Appl Microbiol. 2008; 54(1), pp. 9-24.
13. Nur A.ZinNoor A.Badaluddin. Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. Annals of Agricultural Sciences. Volume 65, Issue 2, 2020, pp. 168-178.

14. Połomska X., Wojtatowicz M., Zarowska B., Szołtysik M., Chrzanowska J. Freeze-drying preservation of yeast adjunct cultures for cheese production. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2012, Vol. 62, No. 3, pp. 143-150. DOI: 10.2478/v10222-011-0045-1
15. Slanina V., Lupaşcu L., Tolocichina S., Burţeva S., Postolachi O., Sîrbu T., Stepanov V., Chiseliţa O. Standardizarea procedurii de conservare a tulpinilor de bacterii păstrate în Colecţia Naţională de Microorganisme Nepatogene. Standardizarea procedurii de conservare a tulpinilor din genul *Pseudomonas* păstrate în CNMN. Buletinul AŞM Ştiinţele vieţii. Chişinău, Nr. 2(317), 2012, p.160-167.
16. Stepanov V., Burţeva S., Postolachi O., Sîrbu T., Tolocichina S., Slanina V. Standartizarea procedirii de conservare a tulpinilor de actinomicete păstrate în Colecţia Naţională de Microorganisme nepatogene. I. Selectarea mediilor de protecţie şi revitalizare optime pentru liofilizarea culturilor de streptomicete. Buletinul AŞM, Ştiinţele vieţii 1 (310) 2010, pp. 128-134.
17. Strasser S, Neureiter M, Geppl M, Braun R, Danner H. Influence of lyophilization, fluidized bed drying, addition of protectants, and storage on the viability of lactic acid bacteria. J Appl Microbiol, 2009, 107(1), pp.:167- 177. doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04192.x.
18. Бондарь П.Н. Штаммы грибов рода Trichoderma PERS(FR.) как основа для создания препаратов защиты растений и получения кормовых добавок Автореферат диссертации кандидата биологических наук, 2011, Москва, 22 с.
19. Волков В.Я. К вопросу о физиологических и физикохимических механизмах устойчивости микроорганизмов к замораживанию и высушиванию. Микробиология. 1994; 63(1), pp. 5–15.
20. Гришкина Т.А., Тимофеева Е.В., Спиридонов В.А. Оценка результатов хранения музейных штаммов возбудителя сапа в течение длительного периода. Проблемы особо опасных инфекций. 2004; 1(87), с. 40–42.
21. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках. М. Изд-во. Наука, 2004, 528 с.
22. Кантерова А.В., Фальковская У.В., Копиця В. Н., Новик Г.И. Развитие специализированной коллекции фитопатогенных микроорганизмов // Изучение и реабилитация экосистем, 2016, с. 20-34.
23. Куплетская М.Б., Нетрусов А.И. Жизнеспособность лиофилизированных микроорганизм после 50 лет хранения. Микробиология. 2011; 80(6), с. 842–846.
24. Сырбу Т.Ф.,Тимуш И.Н., Горинчой В.В., Молдован С.Е., Цуркан О.П. Рост микромицетов в присутствии наночастиц. Biologically active preparations for plant growing proceeding XV International scientific-applied conference Kyiv, 2019, с.50-52.
25. Штаммы грибов рода *Trichoderma* (Pers.: Fr.) как основа для создания биопрепаратов защиты растений и получения кормовых добавок**.** https://detsky-lektory.ru/work/954160/SHtammy-gribov-roda-trichoderma

BIOPREPARATION PHENOFORM FOR THE PURIFICATION OF AQUEOUS SOLUTIONS FROM PHENOL AND FORMALDEHYDE: CREATION AND PERSPECTIVES OF APPLICATION

https://doi.org/10.52757/imb21.070

Aliashkevich Iryna, Hlushen Alena, Chyrykava Marharyta
Institute of Microbiology, National Academy of Sciences, Belarus
e-mail: gem@mbio.bas-net.by

Phenol and formaldehyde are the major pollutants effluents of chemical, wood-processing, pulp-and-paper industrial processes. Numerous studies on the selection of hyperactive microbial degraders of phenol and formaldehyde proved extremely effective, however, further research aimed at upgrading decomposing potential of new strains, is going on incessantly. The goal of this investigation was the development of superefficient microbial preparation intended for removal of mentioned xenobiotics from wastewaters and absorption solutions entrapping toxic components of industrial ventilation discharges treated in in absorption-biochemical units.

We isolated highly active microbial cultures *Rhodotorula* sp. VFF-1 and *Rhodococcus opacus* FF 3-1, capable of utilize phenol and formaldehyde contaminants as the sole carbon source in concentrations under 0.5%. Strain *Rhodotorula* sp. VFF-1 was distinguished by more intense consumption of formaldehyde rather than phenol. In contrast, *Rhodococcus opacus* FF 3-1 culture shoved preference to phenol instead of formaldehyde substrate. The collection data led us to assume that concerted impact of active phenol degrader *Rhodococcus opacus* FF 3-1 and formaldehyde consumer *Rhodotorula* sp. VFF-1 integrated into the same microbial preparation will provide synergistic effect in regard to both xenobiotics. As a result two strains laid the basis of biopreparation PhenoForm. Its efficiency trials demonstrated that formaldehyde in concentration of 500 mg/l was not detected in the samples following 120 hours of study, since phenol and at equivalent contamination level vanished by 198 hours of the study. Since phenol and formaldehyde often find joint use in industrial processes, absorption solutions and effluents, as a rule, carry the dual charge of the pollutants. Application of PhenoForm ensured complete decontamination of test solutions containing 500 mg/l charge of the toxicants (250 mg/l of each substance) in 144 hours.

Generally, absorption solutions display complicated composition and comprise, apart from phenol and formaldehyde, satellite compounds, like ammonia, acetaldehyde, and suspended substances. Comparing data on regeneration of solutions containing only the binary mixture of phenol and formaldehyde with data on treatment of multicomponent wastewater, it was revealed that accompanying agents considerably inhibited formaldehyde utilization rate, as opposed to phenol substation, where they accelerated to some extent its microbial break-down.

Large-scale PhenoForm testing to recover performance of absorption-biochemical units recuperating ventilation air at industrial plants in Belarus and Russia proved to excellent 85-96% phenol and formaldehyde disposal effect for complex multicomponent aqueous solutions pollutant loads up to 1 g/l. The microbial preparation was also engaged to decontaminate effluents of pulp-and-paper mill. The introduced microorganisms secured stability in performance of biological treatment network even at massive input levels and shocking concentrations of toxicants, stepped up oxidation power of activated sludge and in the long run raised general productivity of detoxification facilities. Efficiency of phenol disposal in effluents reached 90-99%, formaldehyde removal – 63-96% depending on the input concentrations of the toxicants.

The developed microbial preparation PhenoForm may be successfully applied at chemical, wood-processing and pulp-and-paper plants for biological treatment of industrial discharges polluted with phenol, formaldehyde and mixtures thereof.

MODIFICAREA CONȚINUTULUI DE PROTEINE ȘI CARBOHIDRAȚI ÎN BIOMASA LEVURILOR LIOFILIZATE ÎN PREZENȚA EXTRACTELOR DIN SPIRULINĂ

https://doi.org/10.52757/imb21.071

Balan (Batîr) Ludmila, Slanina Valerina
Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Republica Moldova
e-mail: batludmila@mail.ru

Tulpinile de microorganisme, utilizate în biotehnologie prezintă valoare economică şi comercială, iar problema menţinerii cât mai îndelungate a proprietăţilor biosintetice şi celor economic valoroase ale microorganismelor a fost şi este permanent în atenţia savanţilor. Păstrarea microorganismelor şi proprietăţilor acestora necesită utilizarea metodelor eficiente de conservare şi monitorizare permanentă al eficacităţii acestor metode.

Un interes deosebit prezintă studiul acţiunii conservanţilor naturali, extraşi din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis,* în calitate de agenţi de protecţie a levurilor din CNMN, în vederea menţinerii cât mai îndelungate a proprietăţilor culturale caracteristice. Utilizarea în acest sens a complexelor policomponente extrase din biomasa de spirulină, în cadrul tehnologiilor intensive, prezintă un interes major, deoarece spirulina este o sursă biotehnologică valoroasă de substanţe bioactive, inclusiv, cu proprietăţi de conservanţi naturali, care posedă un înalt potenţial antioxidant şi antiradicalic.

Problema de cercetare, realizată în cadrul studiului a reieşit din tendinţa ultimului deceniu de a trece de la produse sintetice la cele naturale, ce provin din diferite surse şi sunt caracterizate prin lipsa toxicităţii, activitate biologică înaltă, aplicarea principiului de utilizare a surselor renovabile în biotehnologiile aplicate. Originalitatea şi noutatea cercetărilor realizate în cadrul studiului constă în aceea că, se propune obţinerea conservanţilor naturali din biomasa cianobacteriei *S. platensis* în formă de preparate policomponete, capabile să sporească conținutul de proteine și carbohidrați în biomasa levurilor în urma liofilizării. Sporirea conţinutului de proteine şi carbohidraţi în biomasa levurilor în rezultatul conservării pot pune în evidenţă proprietăţile tehnologice noi ale acestora, pentru ulterioara utilizare la producerea industrială.

Analiza rezultatelor obţinute asupra conţinutului de proteine în biomasa levurilor, după un an de păstrare, a demonstrat că toate extractele policomponente au dus la majorarea conţinutului dat de la nivelul probei martor pentru *Saccharomyces carlsbergensis* CNMN-Y-15, până la 28,06% pentru *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-11, 40,48% pentru *S. cerevisiae* CNMN-Y-20 şi 52,86% pentru *S. cerevisiae* CNMN-Y-21. De asemenea, putem constata că în prezenţa extractelor etanolice, conţinutul proteinelor în biomasă a fost cu 15,80-25,35% mai mic faţă de proba martor numai în cazul tulpinii *S. carlsbergensis* CNMN-Y-15.

Conţinutul carbohidraţilor în biomasa levurilor, după un an de conservare în prezenţa extractelor bioactive din spirulină, a variat în dependenţă de tulpina studiată şi de concentraţia extractului. Astfel, putem constata că pentru tulpina *S. cerevisiae* CNMN-Y-11 şi *S. cerevisiae* CNMN-Y-20 conţinut de carbohidraţi mai mic cu cca 6,9 – 8,4% şi cu 8,1 – 12,3%, respectiv, faţă de proba martor s-a obţinut la utilizarea concentraţiei de 10% a extractului proteoglucidic şi etanolic 65%, în rest conţinutul de proteine este mai mare cu până la 32,0% şi 17,7%, respectiv.

Pentru tulpina *S. carlsbergensis* CNMN-Y-15 conţinutul de carbohidraţi, după un an de conservare în prezenţa extractelor bioactive, a fost mai scăzut faţă de martor în toate cazurile cu excepţia extractului proteic 5%, unde sporul este cu 9,72% mai mare faţă de martor şi a extractului glucidic 10%, unde sporul depăşeşte proba martor cu 32,91%.

În cazul tulpinii *S. cerevisiae* CNMN-Y-21, după un an de păstrare în stare liofilizată în prezenţa extractelor proteoglucidic şi glucidic, conţinutul de carbohidraţi a tins spre o scădere neesenţială cu până la 5,7 şi 8,1% în dependenţă de concentraţie. Cel mai mare conţinut de carbohidraţi în biomasa acestei levuri a fost obţinut în cazul liofilizării în prezenţa extractului proteic în ambele concentraţii. sporul fiind cu 35,6 – 39,6% mai mare faţă de control.

EFFICIENCY OF THE METHODS FOR EXTRACTING MANOPROTEINS FROM BEER YEAST SEDIMENTS

https://doi.org/10.52757/imb21.072

Beşliu Alina, Chiselița Natalia, Chiselița Oleg, Efremova Nadejda, Tofan Elena, Lozan Ana, Daniliș Marina

Institute of Microbiology and Biotechnology, the Republic of Moldova

e-mail:besliu.imb@gmail.com

In recent decades special attention has been paid to the scientific research into the use of industrial by-products obtained in great quantities from the brewing and wine-making processes. One area of major interest is the use of yeast waste to produce biologically active substances. An important component of the yeast cell wall structure is mannoproteins. The manoproteins due to their specific composition, play an important role in maintaining cellular integrity, catalyze various biochemical reactions in the body, participate in the body's immune and autoimmune response. This makes them potentially perspective for application in the animal husbandry, food industry, pharmaceuticals, cosmetology, medicine, winemaking, and agriculture. But the production of mannoproteins is often limited by the rigidity of the yeast cell wall, requiring efficient extraction methods. At present, the extraction processes include enzymes, nanoparticles, ultrasound, and mechanical destruction, used either separately or in combination, but these are quite expensive and require special equipment. Thus, the purpose of this work was to look for more efficient methods of extracting mannoproteins from the yeast sediments.

The research material was the yeast biomass (*Saccharomyces cerevisiae*) of the lower fermentation from beer production, kindly provided by the Kellers brewery (Budesti). For the efficiency of the methods of extracting the mannoproteins from the yeast cell walls, the autolysis conditions were optimized. The autolysis options using the acetic acid and the sodium phosphate buffer were studied. The suspensions were thermostated at +37° C and + 45° C for 8 hours. The mannoproteins were extracted from the biomass of the yeast strain *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18 cultivated with the TiO_2 nanoparticles in the concentration of 10 mg/L, at the temperature of + 25°C for 120 hours [1].

The results of the evaluation of the methods of extraction of mannoproteins from the biomass of beer sediments showed different effects. Thus, it was found that the amount of mannoproteins obtained, depending on the autolysis method, was 34.7-44.85% U.S. The optimal conditions for extraction of the mannoproteins were created in the experimental variants of the biomass autolysis method with the use as the induction factor of the phosphate buffer at the temperatures of +37°C and + 45° C, lasting for 8 hours. The amount of mannoproteins obtained was 40.62% U.S. and 44.85% U.S., respectively, which exceeded the control procedure by 7-16%. In the experimental variants with application of the acetic acid the content of mannoproteins differed insignificantly or was lower compared to the control sample.

Thus, the use of the sodium phosphate buffer allowed to obtain the maximum amount of mannoproteins from the sediments of brewer's yeast, it reduced the autolysis time and temperature, and did not require cultivation and other additional manipulations. It is to be recommended for the practical application.

Bibliography:

1. Usatîi A., Bejenaru L., Tofan E. Procedeu inovativ de cultivare a levurii Saccharomyces cerevisiae CNMN-Y-18 producătoare de manoproteine. Studia Universitatis Moldaviae (Seria Științe Reale și ale Naturii). nr. 1, vol. 91, 2016, pp. 76-79. ISSN 1814-3237.

The research was carried out within the project 20.80009.5107.16 "New biologically active microbial preparations for increasing the reproductive and productive potential of animals of zootechnical interest", funded by the National Agency for Research and Development.

INFLUENȚA POLIZAHARIDELOR DE ORIGINE CIANOBACTERIANĂ ASUPRA VIABILITĂȚII TULPINII *STREPTOMYCES CANOSUS* CNMN-Ac-02 DUPĂ LIOFILIZARE ȘI PĂSTRARE ÎNDELUNGATĂ

https://doi.org/10.52757/imb21.073

Bîrsa Maxim, Chiselița Oleg, Burțeva Svetlana, Rudic Valeriu
Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Republica Moldova
e-mail: chiselita@mail.ru

Necesitatea asigurării ştiinţei şi industriei microbiologice cu tulpini de o înaltă viabilitate şi stabilitate a proprietăţilor iniţiale, ca producători de substanţe bioactive, impune elaborarea şi implementarea a noi medii de conservare şi păstrare a microorganismelor.

Elaborarea metodelor eficiente de conservare și păstrare de lungă durată a culturilor de microorganisme, ca obiecte biotehnologice, prezintă interes indiscutabil pentru microbiologie și în special industria biotehnologică, succesul căreia în mare măsură depinde de viabilitatea producătorului și stabilitatea parametrilor biotehnologici. Cercetătorii au o opinie unică, în privința, menţinerii mai efective a viabilităţii şi păstrării proprietăţilor fiziologice importante pentru biotehnologie a tulpinilor, care constă în alegerea individuală pentru fiecare microorganism a metodelor de păstrare de lungă durată.

Eficacitatea conservării și păstrării tulpinilor depinde de o mulțime de factori, însă cel mai important rol în păstrarea viabilității culturilor îl are componența mediului protector și a celui de revitalizare a culturilor. De regulă, aceste medii conțin aminoacizi, polizaharide, glucide și diverse substanțe antioxidante, care asigură integritatea și stabilitatea membranelor celulare și reduc efectul negativ al radicalilor liberi.

În acest context, scopul acestor cercetări a fost evaluarea influenței polizaharidelor sulfatate cu zinc (PSS_{Zn}) din *Arthrospira platensis* CNM-CB-02 (spirulina) asupra viabilității tulpinii *Streptomyces canosus* CNMN-Ac-02 după liofilizare și păstrare îndelungată.

Liofilizarea a fost efectuată la liofilizatorul „LABCONCO" FreeZone Plus 6 Liter Cascade Console Freeze Dry System (SUA), la temperatura condensorului de -88 ... -94ºC, în vid 6-7 Pa, temperatura de precongelare -50°C, timp de 12 ore. În calitate de mediu protector a servit mediul gelatină 2,5% + glucoză 7,5% (mediul martor) și variantele acestuia, suplimentate cu PSS_{Zn} în concentrație de 20,0, 30,0 și 50,0 %/V. Pentru rehidratarea tulpinii a fost utilizată apa distilată și soluția de PSS_{Zn}, în concentrație de 5.0 %/V.

Rezultatele obținute, ne permit să afirmăm, că PSS_{Zn} în toate concentrațiile studiate influențează pozitiv viabilitatea tulpinii după liofilizare, numărul de celule vii fiind cu 6,0 – 31,0%. mai mare comparativ cu proba martor. Viabilitatea maximală a tulpinii a fost stabilită în probele cu PSS_{Zn} în concentrație de 30,0%/V, numărul de celule vii în care a fost cu 28,3% mai mare față de cel inițial. Utilizarea soluției de PSS_{Zn} pentru rehidratarea tulpinii după liofilizare a avut efect pozitiv moderat, viabilitatea probelor fiind cu 10-11% mai mare comparativ cu cea a probelor rehidratate cu apă distilată.

Ca și după liofilizare, după un an de păstrare, viabilitate maximală a tulpinii a fost înregistrată în probele cu PSS_{Zn} în concentrație de 30,0%/V și a constituit 118 % ce este cu 28,4% mai mult ca în proba martor. Utilizarea soluției de PSS_{Zn} pentru rehidratarea tulpinii după un an de păstrare de asemenea a avut efect pozitiv, viabilitatea tulpinii în probe fiind de 95,3% - 136,7% cu 3,9% - 45,2% mai mare comparativ cu martorul.

Astfel, putem menționa efectul pozitiv al PSS_{Zn} asupra viabilității tulpinii după liofilizare și păstrare îndelungată, exprimat prin majorarea semnificativă cu 30,9, respectiv 28,4% a acesteia, comparativ cu martorul. Rezultatele obținute vor contribui la eficientizarea metodelor de conservare, păstrare și revitalizare a genofondului microbian al Colecției Naționale de Microorganisme Nepatogene.

PROBIOTIC PROPERTIES OF *ENTEROCOCCUS FAECIUM* SPECIES WHICH CONTRIBUTE TO INTESTINAL MICROFLORA BALANCE

https://doi.org/10.52757/imb21.074

Bogdan Victoria, Vrabie Valeria
Institutul de Fiziologie şi Sanocreatologie, Republica Moldova
e-mail: victoriabogdan@gmail.com

Autoprobiotic applications based on *Enterococcus faecium* in clinical practice have been researched on a group of patients with irritable bowel syndrome (IBS). We examined 50 patients with IBS aged 22 to 55 years. In order to objectify the research, patients were randomly assigned into 2 groups:

- patients of the first group (25 people) received lactic acid starter culture containing 108 CFU / ml of own enterococci (*Enterococcus faecium*) in 1 ml of starter culture, at a dose of 100 ml / day - 50 ml twice a day for 10 days);
- patients of the second group received lactic acid starter culture containing *Enterococcus faecium* L3 in a titer of 108 CFU / ml) with a dose of 100 ml / day (50 ml twice a day for 10 days).

Clinical evaluation of the effect of probiotic therapy on the condition of patients with IBS was carried out on the basis of the dynamics of severity such typical symptoms of IBS, as the severity of abdominal pain, discomfort in the epigastric region, flatulence, stool characteristics according to the Bristol scale (BS). Also, the rated preservation of appetite and general state of health were assessed by the patient.

During the follow-up examination of patients after the course of treatment there was noticed a significant improvement in all clinical parameters in both groups which corresponds to the data of scientific research. At the same time, significant differences were observed in the dynamics of some indicators of the two comparison groups. So, in a group of volunteers who received an autoprobiotic, flatulence was significantly less pronounced (the main cause of which is the excessive growth of conditionally pathogenic flora). Also on the background of the application of the claimed product became significantly less pronounced such clinical manifestations of IBS as abdominal pain (0.41 ± 0.15 versus 0.87 ± 0.15 log in the *Enterococcus faecium* L3 group), a feeling of heaviness in the abdomen (0.37 ± 1.14 versus 0.79 ± 1.17 log).

Microbiological examination of the state of intestinal microbiocenosis of the observed patients revealed that both after the course of treatment with lactic acid starter culture based on the *Enterococcus faecium* L3 strain, and after treatment with an autoprobiotic, the state of the microflora significantly improved. More significant changes occurred after the course of autoprobiotic therapy:

1. There is a significant decrease in the number of opportunistic enterobacteriaceae from 0.87 ± 0.38 to 0.12 ± 0.12 log ($p = 0.04$).
2. The number of bifidobacteria significantly increased from 7.79 ± 0.28 to 8.95 ± 0.04 log ($p = 0.0009$).
3. The number of lactobacilli significantly increased from 7.83 ± 0.21 to 8.95 ± 0.04 log ($p = 0.0007$).
4. The number of enterococci significantly increased from 4.91 ± 0.11 to 5.83 ± 0.20 log ($p = 0.002$).
5. The number of *E. coli* significantly increased from 6.12 ± 0.19 to 6.41 ± 0.17 log ($p = 0.005$).

As a result of numerous approbations of the claimed method, the preparation time of a probiotic product obtained on the basis of *Enterococcus faecium* autostrains is significantly reduced, which, in comparison with similar biotechnological probiotics, is an original, effective and safe remedy for the treatment of dysbiosis of any etiology.

ENZYMATIC SYNTHESIS OF FAVIPIRAVIR RIBOSIDE USING RECOMBINANT PURINE NUCLEOSIDE PHOSPHORYLASE

https://doi.org/10.52757/imb21.075

Bulatovski Aleksei, Zinchenko Anatoliy
Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus
e-mail: a.bulatovski@yandex.by

One of the drugs that have the prospect of being used for the therapy of COVID-19 is the modified guanine analogue - favipiravir.

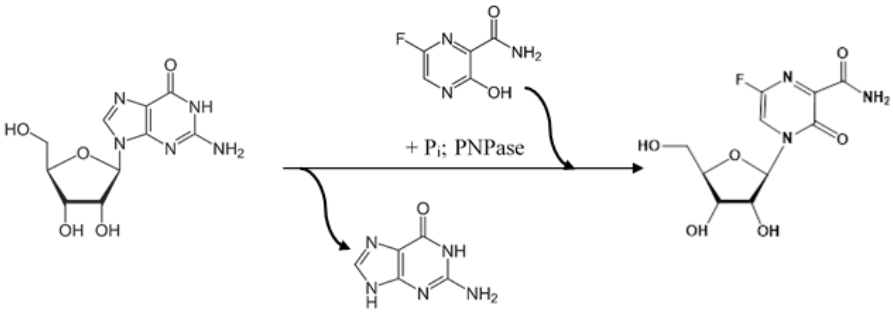
Favipiravir (T-705; Avigan®) is an antiviral agent developed by Fujifilm Holdings and approved in 2014 in Japan for the treatment of influenza.

Favipiravir can effectively inhibit the RNA transcriptase of RNA viruses such as influenza virus, Ebola virus, yellow fever virus, enteroviruses, and chikungunya virus. It has recently been shown to be active against coronavirus in a transplantable monkey kidney cell line "Vero E6".
Thus, favipiravir is one of the real contenders for a drug for possible use in the treatment of patients suffering from COVID-19.

Favipiravir has been approved in Russia, India, China and Japan for the treatment of COVID-19, and it has been reported that favipiravir led to faster recovery in mild to moderate patients. At the same time, a common side effect was discovered, such as high levels of urea in the blood. This increase in urea is especially dangerous for patients with kidney problems. In addition, it is contraindicated in pregnant and lactating *women*.

It seems to us that these side effects of favipiravir can be avoided and, at the same time, the effectiveness of this agent can be increased if its molecule is transformed into ribonucleoside (ribofavipiravir), a compound more reminiscent of the active prodrug form of the ribofavipiravir-5′-triphosphate [1].

This process of transformation of favipiravir into its ribonucleoside was carried out using the previously obtained recombinant purine nucleoside phosphorylase (PNPase) of *Escherichia coli*, according to the scheme:



The reaction mixture (10 ml) containing 10 mM guanosine, 5 mM favipiravir, 0.15 mM K-phosphate buffer (pH 7.0), and PNPase was incubated for 4 h at 50 °C. The accumulation of the product was recorded by thin-layer chromatography on Silufol-UV254 plates (Merck, Germany) in the solvent system isopropanol-chloroform-25% ammonia (10:10:1 v/v). The rate of transformation of favipiravir into its ribonucleoside reached 43 % in 4 h of the reaction.

References:

1. Furuta Y. et al. Mechanism of action of T-705 against influenza virus. Antimicrob. Agents Chemother. 2005. Vol. 49(3). P. 981–986. DOI: 10.1128/AAC.49.3.981-986.2005.

VIABILITATEA TULPINII *STREPTOMYCES CANOSUS* CNMN-Ac-02 DUPĂ LIOFILIZARE ÎN PREZENȚA GLICOZIDELOR FLAVONOIDE

https://doi.org/10.52757/imb21.076

Burțeva Svetlana[1], Chiselița Oleg[1], Bîrsa Maxim[1], Mașcenco Natalia[2]
[1]*Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Republica Moldova*
[2]*Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecția Plantelor, Republica Moldova*
e-mail: chiselita@mail.ru

Păstrarea viabilității microorganismelor de interes științific și practic, reprezintă un factor important pentru dezvoltarea dinamică a microbiologiei și biotehnologiilor microbiene. Astfel, optimizarea metodelor de păstrare și elaborarea mediilor de protecție noi, prezintă interes sporit pentru colecțiile de microorganisme, inclusiv CNMN. În acest context, scopul acestor cercetări constă în evaluarea influenței glicozidelor flavonoide (GF) din *Verbascum phlomoides* L., asupra viabilității tulpini *Streptomyces canosus* CNMN-Ac-02, producătoare de substanțe biologic active, după liofilizare și păstrare îndelungată. Pentru liofilizare, tulpina a fost cultivată în tuburi de sticlă, pe mediul agarizat Czapek cu glucoză, până la începutul fazei staționare de dezvoltare. În calitate de mediu protector a servit mediul gelatină 2.5% + glucoză 7.5% (mediul martor) și variantele acestuia, suplimentate cu GF în concentrații de 0.05, 0.005, 0.0005 %/V.

Liofilizarea a fost efectuată la liofilizatorul „LABCONCO" FreeZone Plus 6 Liter Cascade Console Freeze Dry System (SUA), la temperatura condensorului de -88 -94ºC, în vid 6-7 Pa, temperatura de precongelare -50°C, timp de 12 ore.

Pentru rehidratarea tulpinii a fost utilizată apa distilată și soluții de GF de 0.005, 0.0005, 0.00005 %/V. Rehidratarea a fost efectuată la temperatura camerei timp de 1 oră. Probele liofilizate au fost păstrate la temperatura +4ºC.

Pentru a determina viabilitatea culturii, conținutul fiolelor a fost resuspendat în 1,0 ml de mediu de rehidratare. Numărul de celule viabile a fost exprimat prin log_{10} a unităților formatoare de colonii (UFC) în 1,0 ml de suspensie.

Conform rezultatelor obținute, tulpina liofilizată pe mediu martor și rehidratată cu apă distilată a înregistrat o viabilitate de 86.2%, față de numărul inițial de celule. Suplinirea mediului de protecție martor cu GF în concentrație de 0.05 – 0.0005%/V, în aceleași condiții de rehidratare, a permis majorarea viabilității tulpinii după liofilizare până la 121.2 – 130.2%, ce este cu 21,2-30,3% mai mult față de numărul inițial de UFC și cu 35-44% mai mult față de proba martor. Valoarea maximală a viabilității a fost obținută la suplimentarea mediului protector cu GF în concentrație de 0.005%/V.

Viabilitatea tulpinii după liofilizare, în probele rehidratate cu soluții de GF, a fost și mai mare și a depășit proba martor cu 37.1 – 46.0%.

După un an de păstrare în stare liofilizată viabilitatea *S. canosus* CNMN-Ac-02 în toate variantele a scăzut cu cca. 9.0-13.0%. Deși rata morbidității tulpinii după un an de păstrare în probele experimentale, rehidratate cu apă distilată, a fost mai mare comparativ cu proba martor, viabilitatea tulpinii *S. canosus* CNMN-Ac-02 în aceste probe rămâne în continuare mai mare cu cca. 34.7 – 39.5% față de valoarea de referință.

De asemenea s-a micșorat cu 3.0 – 12.0% viabilitatea tulpinii după un an de păstrare și în probele rehidratate cu soluții de GF, dar rămâne a fi mai mare cu 37.3 – 51.2% față de proba martor, în funcție de concentrația GF în soluție.

Astfel, rezultatele obținute evidențiază influența pozitivă semnificativă a GF din *Verbascum phlomoides* L. asupra viabilității tulpinii *S. canosus* CNMN-Ac-02 după liofilizare și păstrare îndelungată și potențialul înalt de utilizare a acestora în calitate de supliment la mediile de protecție și rehidratare pentru păstrarea eficientă a microorganismelor în colecție.

EFICIENȚA UTILIZĂRII PRO/PREBIOTICULUI *PoultryStar^{R}me^{EU}* ÎN AVICULTURĂ ȘI CULTIVAREA PORUMBULUI

https://doi.org/10.52757/imb21.077

Caraman Mariana, Moscalic Roman, Cremeneac Larisa, Efteniuc Iulia
Institutul Științifico-Practic de Biotehnologii în Zootehnie și Medicina Veterinară, rl Anenii Noi, s. Maximovca, Republica Moldova
m_caraman@mail.ru

Pro/prebioticul ***PoultryStar^{R}me^{EU}*** (producător Biomin AN, Austria) este un preparat simbiotic, destinat păsărilor, pentru stimularea microflorei tractului gastrointestinal prin acțiunea microorganismelor probiotice și a fructooligozaharidelor. Tulpinile de microorganisme (*Bifidobacteriuum animalis spp. animalis, Lactobacillus salivarius spp. salivarius, Enteroccocus faecium*), din componența preparatului, au fost izolate din intestinul păsărilor sănătoase [1, 2].

Pro/prebioticul ***PoultryStar^{R}me^{EU}*** stabilizează și menține în echilibru microbiomul intestinal, manifestă acțiune antagonistă asupra agenților patogeni enterici, contribuie la profilaxia disbacteriozei, sporirea productivității, îmbunătățirea conversiei hranei, reducerea mortalității păsărilor [2].

Scopul lucrării a fost de a studia eficența utilizării pro/prebioticului ***PoultryStar^{R}me^{EU}*** în avicultură, de a obține compost din dejecțiile puilor broiler și utilizarea acestuia în calitate de fertilizant pentru sporirea recoltei de porumb.

Experimentul a fost organizat în condițiile practice ale Întreprinderii individuale avicole „GȚ Nicolaescu V.” (s. Făgureni, rl Strășeni), în care au fost incluse 2 loturi de pui (martor și experimental, câte 100 pui în fiecare). Puii din lotul martor au consumat nutreț combinat specific vârstei, iar cei din lotul experimental au consumat același nutreț combinat cu adaosul pro/prebioticului ***PoultryStar^{R}me^{EU}***, în proporție de 1,0 kg/t de nutreț. Durata experimentului a constituit 45 de zile. La finele cercetărilor, dejecțiile au fost transportate în locuri special amenajate pentru fermentarea tradițională, timp de 9 luni. Compostul experimental I și II a fost obținut din dejecțiile puilor lotului martor și experimental.

În condiții de câmp, au fost selectate 3 loturi cu suprafața de 0,2 ari: lotul I martor (fără compost); lotul II și III experimentale. Compostul experimental I și II a fost încorporat, respectiv în solul lotului II și III experimental, din considerența 10 t/ha, iar peste 3 săptămâni a fost semănat porumbul.

În rezultatul cercetărilor a fost constatat că, cheltuielile pentru asigurarea bunăstării veterinare a puilor broiler din lotul experimental a fost de 2 ori mai mici, iar sinecostul unui kilogram de masă vie de pasăre, în acest lot, a fost cu 1,20 lei mai mic (12,60 lei/kg), comparativ cu cel al păsărilor din lotul martor (13,80 lei/kg).

Utilizarea compostului în cantitate de 10 t/ha, obținut din dejecțiile puilor broiler care au consumat nutreț combinat cu adaosul pro/prebioticului ***PoultryStar^{R}me^{EU}***, a contribuit la:

- ameliorarea calității microbiologice a solului prin sporirea cantitativă a microorganismelor *Lactobacillus spp., Bifidobacterium spp. și Bacillus spp*.;
- sporirea concentrației substanței organice și a humusului, în sol, respectiv cu 48,02% și 15,14%;
- majorarea recoltei boabelor de porumb cu 5,98% și biomasei de paie cu 17,45%.

Bibliografie:

1. Caraman M.; Moscalic R.; Efteniuc Iu.; Stamati C. Influența probioticului *PoultryStar^{R}me^{EU}* asupra bacteriocenozei intestinale a puilor broiler. Simpozion Științific Internațional „85 ani ai Facultății de Agronomie – realizări și perspective”, UASM, Chișinău, 2018, vol.49, p.103-106.
2. Catalog Aditivi și Specialități. Premixuri, Concentrate și Furaje. Biomin^{R}, 2017, pag. 28.

DINAMICA MICROORGANISMELOR ÎN DEJECȚIILE IEPURILOR HRĂNIȚI CU NUTREȚ COMBINAT GRANULAT CU ADAOSUL BIOMASEI DE *Streptomyces levoris CNMN-Ac-01*

https://doi.org/10.52757/imb21.078

[1]**Caraman Mariana**, [1]**Moscalic Roman**, [1]**Cremeneac Larisa**,
[1]**Efteniuc Iulia**, [2]**Burțeva Svetlana**
[1]*Institutul Științifico-Practic de Biotehnologii în Zootehnie și Medicina Veterinară, rl Anenii Noi, s. Maximovca, R. Moldova*
[2]*Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Chișinău, R. Moldova*
m_caraman@mail.ru

Microflora tractului gastrointestinal (microbiota) reprezintă un ecosistem echilibrat și variat, implicat în funcționarea normală a organismului. Rolul biologic al microbiotei constă în menținerea stabilității mediului intern, proceselor fiziologice și biochimice care au loc în organism, protecția împotriva pătrunderii microorganismelor patogene și condiționat patogene tranzitorii, astfel, creând barieră dezvoltării infecțiilor microbiene endogene [1, 2].

Scopul lucrării a constat în studierea influenței nutrețului combinat granulat cu și fără adaosul biomasei *Streptomyces levoris CNMN-Ac-01* asupra microbiocenozei tractului gastrointestinal al iepurilor.

Experiența s-a desfășurat în vivariul din cadrul Institutului Științifico-Practic de Biotehnologii în Zootehnie și Medicină Veterinară, pe două loturi de iepuri, a câte 5 capete în fiecare. Iepurii din lotul martor au fost hrăniți cu nutreț, iar cei din lotul experimental au primit același nutreț cu adaosul a 0,1% de biomasă de *S. levoris CNMN-Ac-01*.

În rezultatul cercetărilor a fost constatat că, consumul de către iepuri, a nutrețului combinat granulat cu biomasă de streptomicete, spre a 75-a zi de experiment, a favorizat sporirea în dejecții a numărului de *E. coli, Clostridium spp., Bifidobacterium spp., Bacillus spp*. respectiv cu 9,47%, 11,70%, 5,40%, 7,78% și diminuarea cantității de *Enterococus spp*. și fungi respectiv cu 12,52%, 24,67% (tabelul 1).

Tabelul 1.Componența microbiologică a dejecțiilor de iepure (n=5), log UFC/g

Indicatori	Inițial, 60 zile	75 zile		Finele experimentului,138 zile	
		Lotul martor	Lotul experimental	Lotul martor	Lotul experimental
NTG	10,45±0,17	8,30±0,21	8,86±0,13	7,18±0,11	6,43±0,05***
E. coli	7,28±0,53	5,95±0,14	7,97±0,22***	5,59±0,05	3,30±0,09*
Enterococcus spp.	6,39±0,04	6,43±0,13	5,59±0,14**	5,37±0,10	3,32±0,09***
Clostridium spp.	7,26±0,05	7,43±0,10	8,11±0,24*	6,28±0,08	5,46±0,15**
Bifidobacterium spp.	8,89±0,24	9,17±0,25	9,37±0,24	7,37±0,35	7,47±0,06
Bacillus spp.	9,0±0,09	6,57±0,11	9,70±0,12***	7,19±0,22	8,17±0,13**
Fungi	8,31±0,30	6,18±0,09	6,26±0,20	10^{-1}- 0	10^{-1}- 0

Nota: *-P>0,95; **-P>0,99;***- P>0,0999

Conform datelor din tabelul 1, pe parcursul experimentului, numărul total de germeni (NTG), *Enterococus spp*. și fungi au fost în descreștere liniară atât în crotinele iepurilor din lotul martor cât și în a celor din lotul experimental.

În rezultatul studiului dinamicii microorganismelor în dejecțiile iepurilor a fost constatat că consumul de către iepuri a nutrețului combinat granulat cu adaosul biomasei de *Streptomyces levoris CNMN-Ac-01*, a contribuit, spre finele experimentului, la diminuarea semnificativă a cantității de *E. coli, Enterococus spp.* respectiv cu 40,97% și 38,18%, și sporirea cantității de *Bifidobacterium spp*. și *Bacillus spp*. respectiv cu 1,36% și 13,63%.

Bibliografie:

1. Данилевская Н. В. Физиологическая роль основных представителей нормальной микрофлоры мелких домашних животных. РВЖ: мелкие домашние и дикие животные, № 1, 2008, с. 28–31
2. Козловский Е.Ю. Дисбактериозы желудочно-кишечного тракта и пути их коррекции. Кролиководство и звероводство, № 4, 2013, с. 24–28.

THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE YEAST BIOMASS FROM THE BEER INDUSTRY WASTE

https://doi.org/10.52757/imb21.079

Chiseliţa Oleg, Chiseliţa Natalia, Beşliu Alina, Efremova Nadejda, Tofan Elena, Lozan Ana, Daniliş Marina
Institute of Microbiology and Biotechnology, the Republic of Moldova
e-mail: chiselita.natalia@gmail.com

The yeasts of the genus *Saccharomyces spp.* are used as a biotechnological tool in the production of several foods, including beer, but, as a rule, after about five fermentation cycles they are wasted, with negative effects for the environment. However, the *Saccharomyces* yeast biomass has a diverse and rich biochemical composition of a great potential, and it can be successfully used after the completion of the fermentation process in the beer production.

The biomass itself and its extracts have antiviral, antibacterial, immunomodulatory and immunostimulatory properties, antioxidant and enzymatic activities. All of that implies vast possibilities for practical applications [2-3].

During fermentation the yeasts are being exposed to different types of stress: osmotic, ethanolic, temperature, oxidative, etc. All that leads to formation of various free radicals, which can affect the quality of the yeast biomass and the biological activity of the products obtained from it. To cope with the stress conditions, yeast cells use various mechanisms to reduce the negative impacts, synthesizing various substances with antioxidant activity, including enzymes, of which the most important are catalase (CAT) and superoxiddismutase (SOD) [1].

Since the antioxidant, CAT, and SOD activities are important indices of quality of the yeast biomass, it was of interest to measure the antioxidant and enzymatic activities of the yeast biomass from the Kellers brewery from Budeshti, Chisinau.

As a result of the research, it was established that the yeast biomass possessed a high antioxidant activity, the values of which varied between 35,7-44,0 mg trolox equivalent to 100 mg B/m. The CAT activity was 448-569 mmol/min per mg protein, and the SOD – 85-153 U/mg protein, depending on the fermentation cycle after which it was taken.

The significant antioxidant activity of the brewer's yeast biomass was due to the substances, synthesized by the yeast strain, and to the polyphenolic compounds, which were present in essential quantities in hamei, used to prepare the must, which during the alcoholic fermentation was adsorbed to the surface of the yeast cells.

Thus, we can conclude that the yeast biomass from the beer industry waste possessed high antioxidant, CAT, and SOD activities, and can serve as an excellent source of various natural products with beneficial biological activity to be used in different practical fields.

References:

1. Clarkson, S. P., Large, P. J., Boulton, C. A., Bamforth, C. W. Synthesis of superoxide dismutase, catalase and other enzymes and oxygen and superoxide toxicity during changes in oxygen concentration in cultures of brewing yeast. *Yeast.* 1991, vol. 7(2), p. 91-103.
2. Fakruddin, M., Hossain, M. N., Ahmed, M. M. Antimicrobial and antioxidant activities of *Saccharomyces cerevisiae* IFST062013, a potential probiotic. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2017, 17(1), p. 64. doi:10.1186/s12906-017-1591-9.
3. Shahat, A. S. Antioxidant and Anticancer activities of yeast grown on commercial media. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 2017, vol. 11(5), p. 2442-2455.

The research was carried out within the project 20.80009.5107.16 "New biologically active microbial preparations for increasing the reproductive and productive potential of animals of zootechnical interest", funded by NARD.

INFLUIENȚA NANOPARTICULELOR OXIZILOR METALICI ASUPRA SPECTRULUI POLIPEPTIDIC A PREPARATELOR ENZIMATICE OBȚINUTE CU TULPINI DE FUNGI MICELIALI DIN GENURILE *TRICHODERMA, FUSARIUM, RHIZOPUS, ASPERGILLUS* ÎN CULTURĂ SUBMERSĂ

https://doi.org/10.52757/imb21.080

Ciloci Alexandra, Bivol Cezara, Clapco Steliana, Tiurina Janeta, Dvornina Elena, Labliiuc Svetlana
Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Republica Moldova
e-mail: alexandra.ciloci@gmail.com

Analiza spectrului polipeptidic a proteinelor izolate din preparatele enzimatice a fost efectuată prin electroforeză în gel de poliacrilamidă SDS-PAGE (15%) prin metoda descrisa de Laemmli [Laemli, U. K., 1970]. Gelurile au fost nuanțate cu coomasie Brillant Blue R-250. În calitate de marcheri proteici au servit proteinele: Phosphorylase b (97.4kDa), Bovine serum albumin (67.0kDa), Egg albumin (45.0kDa), Carbonic anhydrase (29.0kDa), Trypsin inhibitor (21.0kDa).

SDS-electroforeza proteinelor extrase din preparatele enzimatice prezintă numeroase benzi polipeptidice, caracteristice preparatelor cu un grad de puritate 10x, obținute prin sedimentare cu etanol 96%. În cazul studiului SDS-electroforezei proteinelor extrase din preparatele proteolitice obținute cu tulpinile de micromicete *Trichoderma koningii Oudemans* CNMN FD 15 și *Fusarium gibbosum* CNMN FD 12 la cultivare în condiții clasice (martor) și prin sinteză orientată (experimentale) în prezența nano-oxizilor ZnO și Fe_3O_4 au evidențiat atât asemănări, cât și diferențe esențiale între probele martor și experimentale. În cazul micromicetei *Trichoderma koningii* cele mai evidente polipeptide comune au prezentat masa moleculară aparentă de 17 kDa, 26,5 kDa, 34,5 kDa. Diferență vizibilă a prezentat polipeptidul cu masa moleculară 43,5 kDa prezent în proba-martor, dar absent în proba experimentală la cultivarea producătorului în prezența nano-oxidului ZnO, și polipeptidul cu masa moleculară aparentă de 25,5 kDa identificat în proba experimentală, dar absent în proba martor.

În cazul electroforezei proteinelor extrase din preparatele proteolitice obținute din *Fusarium gibbosum* CNMN FD 12 cea mai evidentă deosebire marcată este apariția polipeptidului cu masa moleculară aparentă 54,5 kDa în proba cultivată în prezența nanoparticulelor Fe_3O_4. Dintre benzile identice se menționează polipeptidele cu masa moleculară aparentă 48,5 kDa și 24 kDa.

Electroforeza proteinelor extrase din preparatele lipolitice obținute în baza tulpinii *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 și *Aspergillus niger* CNMN FD 01 a demonstrat asemănări marcante între spectrul polipeptidic al preparatelor rezultate la cultivarea micromicetelor în condiții clasice și de sinteză orientată în prezența nanooxizilor metalici. Astfel, pentru probele obținute cu tulpina *Rhizopus arrhizus* au fost bine evidențiate polipeptidele comune cu masele moleculare aparente 101 kDa, 94 kDa, 53,5 kDa, 47,5 kDa, 45 kDa, 26,5 kDa, 18 kDa. Diferență evidentă a reprezentat polipeptidul cu masa moleculară aparentă 60kDa, evidențiat la cultivarea micromicetei în prezența nanoparticulelor Fe_3O_4.

SDS-electroforeza proteinelor extrase din preparatele lipolitice obținute din *Aspergillus niger* CNMN FD 01, la fel, a prezentat asemănări și deosebiri între probele cultivate în lipsa și în prezența NPs TiO_2. Dintre benzile polipeptidice identice sunt bine evidențiate cele cu masa moleculară aparentă de 100,5 kDa, 87 kDa, 54,5 kDa, 45 kDa, 43 kDa. Diferență evidentă au prezentat polipeptidele cu masa moleculară 27,5 kDa în probele optimizate cu nano-TiO_2 și polipeptidele cu masa moleculară 39 kDa și 22,5 kDa în probele martor.

Astfel, aplicarea nanooxizilor metalici ZnO, Fe_3O_4, TiO_2 în biotehnologia fungilor miceliali *Trichoderma koningii* CNMN FD 15, *Fusarium gibbosum* CNMN FD 12, *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 și *Aspergillus niger* CNMN FD 01 la etapa cultivării ca factori de stimulare a biosintezei hidrolazelor exocelulare modifică spectrul polipeptidic al preparatelor enzimatice obținute cu implicarea nanoparticulelor, demonstrând atât apariția unor polipeptide noi, dar și dispariția altor polipeptide identificate în probele cultivate în condiții clasice.

Cercetările au fost realizate în cadrul proiectului 20.80009.5007.28, finanțat de ANCD.

INFLUIENȚA NANOPARTICULELOR DIOXIDULUI DE TITAN ASUPRA ÎNSUȘIRILOR FIZICO-CHIMICE ȘI CATALITICE ALE LIPAZELOR EXOCELULARE SINTETIZATE DE TULPINA *ASPERGILLUS NIGER* CNMN FD 01 LA CULTIVARE IN PROFUNZIME

https://doi.org/10.52757/imb21.081

Ciloci Alexandra, Clapco Steliana, Tiurina Janeta, Dvornina Elena, Labliuc Svetlana
Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Republica Moldova
e-mail: alexandra.ciloci@gmail.com

În scopul stabilirii influenței nanomaterialelor asupra însușirilor lipazelor extracelulare sintetizate de micromiceta *Aspergillus niger* CNMN FD 01 s-au efectuat cercetări comparative a proprietăților fizico-chimice și catalitice a preparatelor enzimatice obținute prin cultivarea tulpinii producătoare în condiții clasice (martor) și de sinteză orientată, cu utilizarea nanoparticulelor dioxidului de titan (TiO_2) (experiment), utilizat în calitate de biostimulator al enzimelor lipolitice. Pentru realizarea scopului au fost determinate activitatea catalitică, temperatura optimă de acțiune și termostabilitatea, pH-ul optim de acțiune și pH-stabilitatea preparatelor lipolitice – caracteristici principale în vederea implementării succesive a preparatelor enzimatice.

Conform rezultatelor cercetării, activitatea catalitică a preparatelor martor și experimental, evaluată după gradul de hidroliză a uleiului de masline prin dozarea activității lipolitice în condiții standard de hidroliză (37 °C, pH-7,0, timp de incubare 1 oră) a constituit 675000 U/g pentru preparatul martor și 1000000 U/g – pentru cel experimental, fiind superioară martorului cu 48,1%.

Temperaturile optime de acțiune sunt identice pentru ambele tipuri de preparate, se manifestă în intervalul 20-80°C cu activitatea lipolitică maximală la 40°C. Activitatea optimă de acțiune pentru ambele preparate înglobează activitatea lipolitică maximală a preparatelor, determinată în condiții standard de hidroliză (675000 U/g și, respectiv, 1000000 U/g) a substratului cu păstrarea nivelului superior al activității preparatului experimental. *Termostabilitatea* preparatelor lipolitice s-a determinat prin dozarea activității enzimatice remanente după 15, 30 și 60 minute de menținere a preparatelor în lipsa substratului la diferite valori de temperatură în limitele 30-90°C. S-a constatat că indiferent de durata tratării, activitatea remanentă maximală în preparatul martor a fost marcată la temperaturile de 40°C și 60°C constituind 500000 U/g, în preparatul experimental - la 40°C și 70°C, constituind 750000 U/g, prezentând astfel 74,1%, și respectiv, 75,0% din activitatea enzimatică maximală stabilită până la termotratare.

Ambele preparate enzimatice se caracterizează prin prezența a două optime ale *pH-ului de acțiune* – 5,0 și 7,0-8,0. Nivelul activității relevate în preparatul experimental la pH-ul 5,0 constituie 1000000 U/g, față de 750000 U/g în proba martor, fiind cu 33% mai înalt. Sporul activității enzimatice asigurat de nanooxidul de titan se păstrează la toate valorile de pH testate, în cazul valorilor optime constituind – 33,3% (pH-5,0) și 50,8% (pH-7,0 și 8,0).

Preparatul experimental obținut din lichidul cultural al micromicetei rezultat la cultivarea în condiții de sinteză orientată cu utilizarea nanodioxidului TiO_2 se distinge prin pH stabilitate mai înaltă față de cel produs în condiții clasice de cultivare, practic la toate valorile pH-lui analizate. Spre deosebire de preparatul martor care prezintă valoarea maximală a activității reziduale la pH-ul 3,0, ulterior aceasta diminuând treptat odată cu creșterea pH-ului, proba experimentală manifestă, suplimentar încă două maxime ale activității la pH-ul 6,0 și 9,0 cu nivel identic al activității reziduale constituind 754000 U/g, ceea ce prezintă 75,4% din valoarea activității maximale inițiale. Sporul activității enzimatice asigurat de nanoparticulele de TiO_2 se păstrează, activitatea preparatului experimental fiind practic dublă față de cea stabilită în cazul preparatului martor în toate probele analizate.

Conform rezultatelor cercetării, nanodioxidul TiO_2 influențează mai semnificativ însușirile catalitice ale lipazelor extracelulare sintetizate de producător, asigurând o creștere a activității lipolitice de 1,5 ori față de preparatul martor. Efectul provocat de nanoparticule este stabil și se păstrează la toate etapele de procesare tehnologică al lichidului cultural, precipitarea și izolarea enzimelor, precum și în condiții modificate de pH (2,2-9,0) și temperatură (60-90°C).

Cercetările au fost realizate în cadrul proiectului 20.80009.5007.28, finanțat de ANCD.

ANTAGONISMUL BACTERIEI *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* ÎN CADRUL CONTROLULUI BIOLOGIC AL BACTERIOZEI CULTURII NUCIFERE

https://doi.org/10.52757/imb21.082

Crucean Ștefan
Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, Republica Moldova
e-mail: Stefan.ace681@gmail.com

Bacterioza nucului (*Xanthomonas pv. Juglandis*) este una dintre cele mai răspândite boli ale nucului, aceasta ducând la pierderi economice notabile. *Xanthomonas pv. Juglandis* este o bacterie în formă de tijă, care poate ataca frunzele, fructele (nucile), mugurii și lăstarii tineri. La început, simptomele apar sub formă de pete mici, de culoare maro închis dacă infecția progresează, se pot observa zone întinse de țesuturi moarte întunecate. Datorită eficacității limitate a metodelor de control actuale ale acestei boli, aproximativ 60 - 70% din productivitatea nucilor poate fi pierdută în anumite circumstanțe.

Bacteria iernează în mugurii vegetativi, mugurii micşti şi amenţi, şi la suprafaţa acestor organe, precum şi în leziunile de pe ramurile anuale. Aceste populaţii bacteriene constituie inoculul care provoacă infecţiile primare de primăvară. Apoi, multiplicarea bacteriei în ţesuturile frunzelor şi lăstarilor, constituie sursa de inocul pentru contaminările secundare. În cursul infecţiilor tardive, pot fi afectate fructele, ele rămânând, totuşi, în pom până în momentul recoltării; în acest timp, fie miezul este distrus în totalitate, fie coaja se înnegreşte, fructele devenind improprii pentru vânzare. Inoculul prezent vara, poate contamina în egală măsură mugurii şi amenţii, şi poate compromite potenţialul productiv al anului viitor. Bacteria se înmulţeşte rapid, atunci când umiditatea aerului este ridicată, iar temperaturile sunt cuprinse între 16 şi 29°C. (Dömötör, D., Frank, T., 2016)

Studiul a fost efectuat în cadrul livezii de culturi nucifere ale Grădinii Botanice și cu utilizarea literaturii de specialitate de origine internațională.

Testele savanților din Turcia au arătat, că unele tulpini de *Pseudomonas fluorescens* sunt agenți promițători de biocontrol al bacteriei declanșatoare a bacteriozei nucului. Conform acestora, bacteriile antagoniste izolate din plantele sănătoase de nuc pot fi mai bine adaptate la această specie și să ofere un control mai bun al bacteriozei, decât al organismelor izolate din alte specii de plante.

Un exemplu de tulpină utilizată, este cel al aplicării tulpinii *Pseudomonas vagans*, aceasta reducând cu 71% din intensitatea manifestării bolii. (Ozaktan, M., Erdal, A., Akkopru, I., 2012)

Cu toate acestea, sunt necesare studii suplimentare pentru a dezvolta o producție și o aplicare adecvată la livezile de nuci, în speranța de a produce un instrument eficient în procedura de exterminare ale patologiei date. Cu certitudine se poate afirma, că bacterioza culturii nucifere este frecventă în livezile de acest tip, iar combaterea acesteia se impune drept o necesitate. Sub acest aspect, bacteria *Pseudomonas fluorescens* merită o atenție deosebită întru utilizarea ei în condițiile Republicii Moldova.

Rezultatele ştiinţifice expuse au fost obţinute în cadrul proiectului 20.80009.7007.16 „Sinergismul dintre factorii naturali şi mijloacele microbiologice, ecologic inofensive, de reglare a densităţii populaţiilor de organisme dăunătoare pentru protecţia culturilor agricole în agricultura convenţională şi ecologică”, finanțat de Agenția Națională pentru Cercetare și Dezvoltare (ANCD), Republica Moldova.

EFFECT OF FEED ADDITIVE POLYACT ON IMMUNE STATUS OF BROILER CHICKENS

https://doi.org/10.52757/imb21.083

Kulish Sviatlana[1], Prusakova Anastasiya[2], Sapunova Leanida[1], Tamkovich Iryna[1]
[1]*Institute of Microbiology, Belarus National Academy of Sciences, Minsk, Belarus*
e-mail: leonida@mbio.bas-net.by
[2]*Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Belarus*
e-mail: mlnasturziya@yandex.ru

One of the factors governing economically grounded farm stock breeding is high quality of fodder. Special role in upgrading nutritive, energy and biological value of feed resources is attributed to various additives. In this regard, active (living) yeast and their bioactive metabolites are of great interest. It was proved that upon regular consumption they cause a favorable effect on stock and poultry digestion, protect the gut environment when the rations undergo changes, stimulate secretion of peptic enzymes, intensify uptake of nutrients by the mucous lining of the gastrointestinal tract, inhibit development of pathogenic microbiota, normalize rumen and gut biocenosis. The consequence of such impact is the significant decline in risk of provoking acidosis, diarrhea and other diseases related to malfunctioning of vital organs and systems in animal body. It was also reported that yeast-like fungi showing antioxidant capacity, antiinflammatory activity, and immunomodulating potential, improve significantly physical fitness and reproductive health status.

Researchers of Institute of Microbiology, NAS of Belarus have developed feed additive Polyact containing consortium of two yeast-like fungi represented by genera *Cryptococcus* and *Rhodotorula* and the derived metabolites – poly- and oligosaccharides, carotenoids, enzymes, peptides. It was found that application of new feed product promoted activity of intestinal microbiota in young cattle and poultry, recovered metabolic processes in the body, displayed hepatoprotective effect. Aim of this study was to assess the influence of feed supplement Polyact on immune status of broiler chickens. In this regard, parameters characterizing natural fowl body resistance were investigated: lysozyme and bactericidal activity of serum, phagocytic activity of leukocytes, their phagocytic number and phagocytic index.

According to the obtained data, lysozyme activity of chicken serum in all groups varied from 13.76±1.15% to 14.20±1.29% at the startup (initial) phase of the experiment and fell thereafter. However, this blood parameter in broilers of test groups receiving liquid feed additive Polyact at the dose 2 and 3 ml/capita by 14 and 42 days proved significantly ($P<0,05$) higher than in broilers of control group. Likewise, statistically significant surplus of serum bactericidal activity was recorded by 28 and 42 days in poultry of both test groups compared with the control group.

Phagocytic activity of leukocytes in blood of broilers from test groups checked upon 14 days of Polyact feeding exceeded the similar parameter in chickens from the control group by 8.8-9.6%. This correlation lasted throughout the whole experiment so that by 42 days the excess of phagocytic activity level in the test groups constituted 10.1-10.7%.

At the same time, no significant *differences* in phagocytic number reflecting the average number of microorganisms ingested by one leukocyte, were found between broilers from the control and test groups. Nevertheless, this parameter in poultry from test groups exceeded the control value, indicating better neutralizing capacity of their leukocytes.

An extra evidence of enhanced protective capacity of leukocytes under the action of liquid feed additive Polyact introduced into broiler rations is phagocytic index defining the ratio of total number of microorganisms captured by leukocytes to the total number of examined leukocytes. This parameter in test group was shown to be superior relative to the control in the course of the whole experimental period.

In conclusion, the elevated levels of bactericidal and lysozyme activity in serum, the increased phagocytic activity of leukocytes, phagocytic number and phagocytic index values result from activation of native resistance and immunological reactivity in broilers consuming feed additive Polyact.

PCR ANALYSIS OF PHENAZINE OPERON TRANSCRIPTIONAL REGULATION IN *PSEUDOMONAS CHLORORAPHIS* SUBSP. *AURANTIACA*

https://doi.org/10.52757/imb21.084

Liaudanskaya Anastasia I., Verameyenka Katsiaryna G., Maximova Natalia P.
Belarussian State University, biological faculty
e-mail: liaudanskaya@bsu.by

Pseudomonas chlororaphis subsp. *aurantiaca* bacteria are producers of various biologically active substances, including products of the aromatic nature of the shikimate pathway. The shikimate pathway is a metabolic pathway that leads to the formation of chorismate, a precursor of essential amino acids, as well as siderophores, quinones, pigments, and phenazine compounds. Phenazines are a large group of nitrogen-containing heterocyclic compounds whose properties are determined by the presence and location of various functional groups in these compounds. They are used in agriculture (as antimicrobial agents), medicine (as antifungal and antitumor agents). Due to their ability to transfer electrons, the use of phenazines in biosensor technologies is promising.

Regulation of the flow of metabolites along the shikimate pathway is carried out due to the products of seven genes *phzABCDEFG* of the phenazine operon (phz operon). Therefore, it is important to understand at what stage of bacterial growth (exponential phase or stationary phase) and at which genes of this operon are expressed at the highest level to have a possibility to influence on production of primary and secondary metabolites of shikimate pathway.

In order to monitor the expression of the genes of the phenazine operon, as well as the gene encoding DAHP-synthase type II, located outside the operon in dynamics, three time intervals were selected for the exponential phase of bacterial growth (12, 18 and 24 hours) and two ones for the stationary phase of bacterial growth (4.5 days and 6 days). This experiment was conducted with *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-162 bacteria that were cultivated on minimal medium (M9) and production media. Unique primers were developed to each gene of *phz* operon. PCR analysis was conducted with cDNA of each sample as matrix.

In the case of *Pseudomonas* bacteria that were cultivated on production media, the expression level of the phenazine operon genes *phzABCDE* gradually increased from the initial stage of life cycle and reached the highest level on the 6th day of cultivation. Expression level of genes *phzF* and *phzG* showed the same trend, but their level ~~is~~ was lower than for the other genes. In sample of the 6th day of cultivation, PCR-products concentration of all phz genes was almost equal. This can be explained by participation of PhzF and PhzG at the later stages of secondary metabolite biosynthesis, while other proteins also catalyze reactions of primary metabolite biosynthesis.

In the case of bacteria that were cultivated on minimal medium (M9), the genes of phz operon *phzABCDEFG* were expressed at the highest level from 12 to 24 hours. The expression level of genes *phzF* and *phzG* was lower than for the other genes of operon. Then, the expression level reduced and showed an upward trend on the 6th day of cultivation. Minimal media are not suitable for the production of secondary metabolites such as phenazine compounds. That is why, the highest level of phz operon expression was seen in the exponential phase of bacterial growth, when products of these genes catalyze reactions of primary metabolites such as aromatic amino acids. The resumption of operon expression on the 6th day of cultivation may indicate the participation of enzymes encoded in phz operon in some secondary metabolite biosynthesis, but not at the same level as on production media.

BIOSYNTHESIS OF POLYENE ANTIBIOTICS AND PHYTOHORMONES UNDER THE ACTION OF EXOGENOUS B-SITOSTEROL BY SOIL STREPTOMYCETE *STREPTOMYCES NETROPSIS* IMV Ac-5025

https://doi.org/10.52757/imb21.085

Loboda M.I., Biliavska L.O.
Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine,
154 Acad. Zabolotny Str., Kyiv, 03143, Ukraine
e-mail: marichka20loboda@gmail.com

Representatives of *Streptomyces* genus belong to *Actinobacteria* family and produce a wide range of biologically active substances (BAS) with diverse biological properties, which are use in various fields of agriculture. The new *Streptomyces netropsis* IMV Ac-5025 strain was isolated by the researchers from Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the NAS of Ukraine which is antagonist against phytopathogenic fungi (representatives of *Alternaria, Fusarium, Cladosporium* genera) and synthesizes the polyene antibiotic complex (heptaene candidine and tetraene), phytohormones, and others BAS. However, the relationship between the producer's biosynthesis of polyene antibiotics and other metabolites and their effect on the yield of the target bioproduct is not clear over time. The correlation analysis of the relationship between the biosynthesis pathways of different classes of biologically active substances produced by *S. netropsis* IMV Ac-5025, conducted by authors, showed that β-sitosterol has a significant effect on the accumulation of polyene antibiotics. Therefore, the aim of the work was to analyze the effect of exogenous β-sitosterol on the accumulation by *S. netropsis* IMV Ac-5025 of polyene antibiotics and other biologically active substances *de novo* under the conditions of submerged cultivation.

The polyene antibiotic is an intracellular metabolite, but the addition of a steroid compound has caused their super synthesis and excretion from the cell. The amount of polyene antibiotics in the culture liquid of *S. netropsis* IMV Ac-5025 ranged from 3 to 13.38 μg/ml and was the highest under the action of 10 μg/ml of β-sitosterol, which is 4.46-fold more than in the control variant. The accumulation of both fractions: heptaene candidine and tetraene was increased. Under the action of 0.1; 0.25; 2.5; 5; 10 μg/ml of exogenous β-sitosterol in the producer's biomass polyenes were accumulated and ranged from 2315 to 4919 μg/g, whereas in the control their quantity was occurred 1929 μg/g of absolutely dry biomass (ADB). Under the action of10 μg/ml of exogenous substance, the amount of tetraene was increased 2.3-fold and candidine – 3.2-fold, and the amount of polyenes – 2.5-fold compared control variant.

Exogenous β-sitosterol had a positive effect on the accumulation of auxins (indole-3-acetic acid, indole-3-acetic acid hydrazide, indole-3-carbinol, indole-3-carboxylic acid, indole-3 butyric acid, indole-3-carboxaldehyde) and abscisic acid (ABA). The amount of auxins in the biomass of producer was ranged from 56.14 to 458.4 μg/g ADB and was the highest under the action of 5 μg/ml of β-sitosterol, which is 8-fold higher than without the addition of the substance. The ABA accumulation was ranged from 3.2 to 8.1 μg/g ADB and was highest under the action 0.25 μg/ml of β-sitosterol, which is 2.5-fold higher than in the control variant.

Thus, the addition of β-sitosterol in the synthetic nutrient medium during the submerged cultivation of *S. netropsis* IMV Ac-5025 increases the biosynthesis of both polyene antibiotics (2.5-fold) and phytohormones, including auxins (8-fold) and ABA (2.5-fold) in the producer's biomass, which may indicate the relationship between the pathways of their biosynthesis. This creates the preconditions for metabolic regulation of qualitative and quantitative accumulation by *S. netropsis* IMV Ac-5025 of biologically active substances (antibiotics, phytohormones, etc.) and obtaining a bioproduct with specified properties for application in agriculture.

Keywords*: Streptomyces netropsis, polyene antibiotics, candidine, tetraene, biosynthesis, auxins, abscisic acid.*

PERSPECTIVA UTILIZĂRII ÎN SPAȚII PROTEJATE A *SACCHAROPOLYSPORA SPINOSA* PENTRU PROTECȚIA CULTURII DE CASTRAVEȚI DE DĂUNĂTORI

https://doi.org/10.52757/imb21.086

Lungu Andrei
Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, Republica Moldova
e-mail: andreilungu1004@gmail.com

La cultivarea culturii de castraveți în condiții de sol protejat încă mai este o problemă controlul dăunătorilor *Aphis gossypii*, *Frankiniella occidentalis*, *Tetranychus urticae*, *Trialeurodes vaporariorum*, aceste specii au dezvoltat rezistența la preparatele de origine chimică și în continuare sunt vectorii unui spectru întreg de boli virale și bacteriene. Scăparea de sub control a populațiilor de dăunători în cele mai bune cazuri va scădea roada posibilă cu 10 - 15%, iar în cazurile extreme va duce la compromiterea totală a rotației. Astfel, vor fi necesare măsuri de asanare a încăperilor de creștere, ceea ce duce la stoparea procesului de producere, neîncadrarea în perioadele cheie (plantațiile nu vor intra pe rod în perioadele când cererea pe piață este maximă și cel mai bun preț). Pesticidele chimice au intervale lungi înainte de recoltare (roada în această perioadă este distrusă), duc la formarea rezidiurilor, sunt periculoase atât pentru lucrători cât și pentru mediul înjurător.

În întreaga lume crește necesitatea utilizării metodelor alternative de combatere a dăunătorilor, ceea ce va permite controlul populațiilor acestora fără a merge la compromisuri la parametri ca: calitatea, costurile, rentabilitatea și eficacitatea biologică.

Savanții de pretutindeni elaborează preparate ecologic inofensive, utilizând celule vii de microorganisme și substanțele biologic active ale acestora, extracte de plante, repelenți.

Prezintă interes specia *Saccharopolyspora spinosa*, care este o specie de actinobacterii descoperită relativ nu demult de către Frederick P. Mertz și Raymond C. Yao, fiind descoperită pe Insulele Virgine. De fapt, prezintă interes spinozinele A și D sintetizate de către acestea ca metaboliți secundari, clasa de compuși din care fac parte fiind numită generic spinosad. Mecanismul său de acțiune constă în alterarea canalelor ionice nicotinice și GABA. Insectele, la înglobarea acestuia vor prezenta contractări involuntare a musculaturii după care va surveni moartea. Pentru mamifere acesta prezintă un risc redus. Un alt plus, este, că la acțiunea razelor UV are loc alterarea structurii, iar peste două săptămâni se produce distrugerea spinosadului, ceea ce în consecință, va permite obținerea roadei fără reziduuri și atingerea unei siguranțe pentru lucrători și consumatorii finali.

La testările de laborator spinosadul a avut o eficacitate biologică de peste 90 %. Dar cum a fost menționat mai, sus sunt necesare studii ulterioare pentru a vedea cum acesta va acționa în condițiile reale de utilizare și anume, de sol protejat, la cultura de castraveți. Aceste studii sunt necesare pentru elaborarea unor forme preparative ce vor permite menținerea substanței active până când aceasta va ajunge în tractul digestiv al insectei, unde deja va începe acțiunea. Restul substanței de pe suprafața plantei va avea o perioadă de înjumătățire, ceea ce va permite atingerea unei eficacități biologice dorite de agricultori și fără o acțiune de lungă durată asupra agroecosistemului.

Circumstanțele actuale impun standarde dure în agricultură, aceasta este o conștientizare a omenirii după o etapă unde din nevoia de a mări rapid cantitatea de alimente au fost utilizate cantități enorme de îngrășăminte sintetice și produse de uz fitosanitar, consecințele acestor acțiuni sunt simțite în prezent, situația agravându-se foarte rapid. Agricultura necesită soluții simple din punct de vedere a executării pentru agricultori dar care să permită o utilizare logică și de lungă durată a resurselor actuale. Spinosadul poate deveni o verigă a acestui lanț. Premise pentru aceasta sunt, dar este nevoie de o testare în practică și timp, ceea ce va permite obținerea unui produs cu eficacitate înaltă, ușor de manevrat și sigur.

UTILIZAREA BIOPREPARATELOR ÎN BAZĂ DE *TRICHODERMA* PENTRU PROTECȚIA VARZEI DE BACTERIOZA VASCULARĂ

https://doi.org/10.52757/imb21.087

Lungu Andrei, Șcerbacova Tatiana
Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, Republica Moldova
e-mail: andreilungu1004@gmail.com

Bacterioza vasculară este una din cele mai periculoase boli a culturilor crucifere la nivel mondial, agentul patogen este bacteria gram-negativă *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson. Cea mai mare importanță economică o prezintă la varza albă, patogenul atacă plantele la toate etapele de dezvoltare: plantule, răsad, plante mature. Căpățânile atacate conțin de 1,5 ori mai puține zaharuri și cu 11 - 17 % mai puțin acid ascorbic în comparație cu plantele sănătoase. Pentru protecția acestei culturi este nevoie de a aplica pe larg spectrul de preparate ecologice, inclusiv cele de origine microbiologică.

Ciupercile microscopice au cea mai mare aplicație practică în combaterea biologică a bolilor plantelor, lider este genul *Trichoderma* Pers. ex Fr. Succesul reprezentanților acestui gen se datorează capacității lor reproductive ridicate și de a supraviețui în diverse condiții, precum și agresivității puternice față de agenții patogeni ai plantelor (Harman G.E., 2011; Oros G., Naár Z., 2017).

Scopul cercetărilor - determinarea eficacității biologice a preparatelor în bază de ciuperci din genul *Trichoderma* în protecția verzei de bacterioza vasculară. Cercetările au fost efectuate în anii 2018 - 2019 în condiții de sol protejat. Pentru protecția verzei de bacterioza vasculară au fost utilizate preparatele Glicladin - SC și Trichodermin - SC în bază de ciupercile microscopice din genul *Trichoderma*. Biopreparatele au fost incluse în anul 2015 în Registrul de stat al produselor de uz fitosanitar și al fertilizanților. Producentul preparatului Gliocladin - SC este ciuperca *Trichoderma virens* Miller, Giddens and Foster, susa 3X. Producentul preparatului Trichodermin - SC este ciuperca *T. lignorum* (Tode) Harz., susa M - 10. A fost utilizat soiul de varză cu precocitate medie. Eficacitatea biologică a preparatelor contra bacteriozei vasculare a fost determinată prin metoda udării plantelor cu suspensii de 1,5 % a preparatelor studiate. Pe parcursul perioadei de vegetație au fost efectuate trei udări: prima în timpul răsădirii plantulelor, încă 2 udări cu un interval de 12 zile.

Pe parcursul a 2 ani de cercetare în varianta Martor intensitatea atacului în mediu a fost de 33,5 %, iar gradul de atac de 43,3 %. La udarea cu Gliocladin - SC intensitatea atacului s-a micșorat până la 7,5 %, iar numărul de plante atacate până la 13,8 %. Eficacitatea biologică a fost de 79,6 %. Acțiunea biopreparatului a fost mai slabă - intensitatea atacului a fost de 10,9 %, gradul de atac - 20 %, eficacitatea biologică a fost la nivel de 67,1 % (tab.1).

Tabelul1. Eficacitatea biologică a preparatelor biologice în bază de *Trichoderma* în protecția verzei de bacterioza vasculară, datele pentru 2 ani de cercetări

Varianta	Intensitatea atacului, %	Gradul de atac, %	Eficacitatea biologică, %
Martor	33,5	43,3	-
Gliocladin - SC	7,5	13,8	79,6
Trichodermin -SC	10,9	20,0	67,1
$DEM_{0,05}$	6,0	10,5	11,8

Introducerea preparatelor biologice în sistemul de protecție a varzei va contribui la posibilitatea refuzului parțial a utilizării mijloacelor chimice de protecție în câmpurile de varză.

Rezultatele științifice expuse au fost obținute în cadrul proiectului 20.80009.7007.16 „Sinergismul dintre factorii naturali și mijloacele microbiologice, ecologic inofensive, de reglare a densității populațiilor de organisme dăunătoare pentru protecția culturilor agricole în agricultura convențională și ecologică”, finanțat de Agenția Națională pentru Cercetare și Dezvoltare (ANCD), Republica Moldova.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE TANNINS ISOLATED FROM WALNUT (*JUGLANS REGIA* L.)

https://doi.org/10.52757/imb21.088

Lupascu L., Timbaliuc N., Lupascu T., Slanina V. *

Institute of Chemistry, Ministry of Education, Culture and Research, 3 Academiei Str., Chisinau 2028, the Republic of Moldova,

**Institute of Microbiology and Biotechnology, Ministry of Education, Culture and Research, 1 Academiei Str., Chisinau 2028, the Republic of Moldova*

e-mail:lucianlupascu75@gmail.com

Juglans regia walnut shell is a rich source of phenolic compounds, of which the tannins manifesting high antioxidant, antibacterial and anticandidic activity [1]. The aim of the present research was to establish the antimicrobial activity of the intact and oxidized tannins isolated from the walnut septum *J. regia*.

J. regia walnut septum served as a vegetable raw material for the obtaining of the tannins. The testing of the antimicrobial activity of the tannins was performed on the bacteria *Bacillus subtilis* - gram-positive, *Pseudomonas fluorescens*¸ *Erwinia amylovora*, *E. carotovora*, *Xanthomonas campestris* - gram-negative, the yeast *Candida utilis*, the fungi *Fusarium*.

The extraction and oxidation of the tannins were performed by static method (maceration, periodic draining), taking into account also important factors, such as the concentration of the solvent, the ratio of plant product: solvent, extraction duration. The total content of the polyphenolic compounds was determined by spectrophotometric method with Folin-Ciocalteu color reagent [2].

The following were established: 1) intact and oxidized tannin extracts, show differentiated antibacterial and antifungal action depending on the concentration of the preparation and the species of the microorganisms; 2) the oxidation of the tannin extract led to the increase of the antibacterial activity for *E. amylovora* and *E. carotovora*, and its decrease for *B. subtilis*, the efficient concentrations being 0.15; 0.15 and 0.3%, respectively; 3) the highest antifungal activity presented the intact and oxidized tannins in the concentration of 0.05% for *D. sorokiniana*, followed by the oxidized tannins-0.05% for *F. oxysporum*; 4) the tannin extracts determined the development of small spores and the inhibition of the intracellular wall biosynthesis (*D. sorokinana*), premature germination of spores and an uneven development of fungal mycelium hyphae (*F. oxysporum*).

References:

1. Noumi E. et al., Journal of medicinal plant research. 2011, vol. 5(17), p. 4138.
2. Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. Method Enzymol. 1999, vol. 299, p. 152.

STUDY OF THE ABSORPTION OF *BACILLUS SUBTILIS AND PSEUDOMONAS FLUORESCENS* ON ACTIVATED CHARCOAL OBTAINED FROM APRICOT HUSKS

https://doi.org/10.52757/imb21.089

Lupaşcu L., Petuhov O., Lupaşcu T., Slanina V., * Chiselita O. *

Institute of Chemistry, Ministry of Education, Culture and Research, 3 Academiei Str., Chisinau 2028, the Republic of Moldova,

**Institute of Microbiology and Biotechnology, Ministry of Education, Culture and Research, 1 Academiei Str., Chisinau 2028, the Republic of Moldova*

e-mail:lucianlupascu75@gmail.com

The paper presents the results of scientific research related to the study of adsorption processes of bacteria within the species *Bacillus subtilis and Pseudomonas fluorescens* on activated carbon obtained from apricot husks in a fluidized layer. The activated carbons used have a specific BET area of about 1500 m^2/g and a total sorption volume of the pores equal to 1,05 cm^3/g. The study of the kinetics of the adsorption processes of the bacteria within the above mentioned species showed that the value of the maximum adsorption of the bacteria is established within 2,5 hours.

After 2,5 hours of mechanical stirring, the concentration of bacteria begins to increase exponentially. After 13,5 hours of contact, the concentration of bacteria increases so rapidly that the bacteria coagulate forming microfuges in solution. The obtained results allow us to conclude that the bacteria in the first 2,5 hours are adsorbed in the macropores of the activated carbon.

After the saturation of the macropores, the activated carbon has the role of mechanical surface, which allows the rapid multiplication of bacteria. This fact is also confirmed by the research results, which are related to the study of the behavior of bacteria when stirring in aqueous solutions in the absence of activated carbon, especially the linear decrease in the concentration of bacteria depending on the contact time.

Acknowledgement: This research was carried out with the financial support of the institutional project "The reduction of the environmental and health impact of toxic chemicals through use of adsorbents and catalysts obtained from local raw material" DISTOX, No 20.80009.7007.21

EFECTUL TRATĂRII GĂINILOR OUĂTOARE ÎN PRIMA FAZĂ TEHNOLOGICĂ DE OUAT CU ZooBioR ASUPRA PRODUCTIVITĂȚII ȘI CALITĂȚII CĂRNII

https://doi.org/10.52757/imb21.090

Macari V., Pistol Gh., Fanari I., Putin V., Rotaru A., Rotari L., Pavlicenco N.
Universitatea Agrară de Stat din Moldova, Republica Moldova
e-mail: macvasile@mail.ru

Creşterea şi exploatarea găinilor ouătoare în condiţii intensive de fabrică avicolă înaintează o serie de probleme privind balansarea raţiei. Tehnologiile anevoioase, care nu iau în calcul cerinţele fiziologice ale păsărilor, duc atât la o adaptare dificilă, cât şi la ***„oboseala celulară”*** la găinile ouătoare, cu o gamă largă de consecinţe negative pentru sănătatea, bunăstarea şi producţia obţinută de la păsări. Studiul relatat a fost axat pe investigarea influenţei remediului ZooBioR, obţinut din cianobacteria *Spirulina platensis* asupra sănătăţii, productivităţii, şi în special asupra calităţii cărnii de pasăre, aflate în prima fază tehnologică de ouat.

În calitate de material biologic, în paralel cu produsul ZooBioR au fost luate şi 70 puicuţe, divizate în 5 loturi, dintre care 1 lot martor (LM) şi 4 loturi experimentale (LE), la care produsul testat s-s administrat pe durata studiului (129 zile), în diferite doze (5,0; 10,0; 15,0 şi 20,0 mg substanţă activă/kg furaj). Păsările din toate loturile au beneficiat de aceleaşi condiţii conform tehnologiei practicate. În conformitate cu cerinţele prevăzute de studiul întreprins, la câte 5 găini din fiecare lot, la diferite etape ale cercetării s-a determinat temperatura corporală, precum şi frecvenţa mişcărilor respiratorii. În plus, păsările permanent au fost monitorizate, periodic investigate, ouăle zilnic au fost colectate separat pe loturi şi numărate. La debutul studiului, pe durata acestuia, cât şi la finele investigaţiei găinile au fost cântărite individual. Mai mult decât atât, la finele experimentului au fost supuse sacrificării de control 25 găini (a câte 5 păsări din fiecare lot), procedeu tehnologic în care s-au recoltat şi porţiuni de ţesut din muşchii pectorali, respectându-se aceeaşi tehnică de recoltare pentru toate loturile.

Într-un context general, menţionăm, că remediul testat a fost bine tolerat de găinile din toate loturile. În acelaşi timp, în baza cercetărilor clinice, produsul ZooBioR a manifestat proprietăţi adaptative şi antistresorii. Evoluţia masei corporale a scos în evidenţă faptul, că la păsările din LM indicatorul zootehnic – spor total/perioadă a fost în medie de 59,25 g, pe când la păsările din LE acest parametru a fost de 94,27 - 128,60 g, sau de 1,6 - 2,2 ori mai mare, comparativ cu valorile martorului. Aceste rezultate, în opinia noastră sunt benefice, indicând o adaptabilitate mai bună a găinilor în procesul stresant de exploatare intensivă. Cercetările biochimice ale ţesutului muscular efectuat la finele experimentului (129-a zi) evidenţiază o creştere a proteinei totale la 3 LE cu 7,2 - 15,4% faţă de martor, constituind 35,92 g/l. Important este şi faptul, că albuminele musculare au avut aceeaşi tendinţă de manifestare, creşterea fiind de 6,0 - 17,6% faţă de lotul martor, la care acest indice a fost de 12,05 g/l. În paralel, remediul ZooBioR a indus o diminuare a enzimei ALT la LE 2 şi 3 cu 5,4 - 16,2% şi una de creştere cu 5,4 - 18,9% la LE 1 şi 4, respectiv faţă de lotul de control. Valorile enzimei AST în muşchi, la toate LE, au fost cu 3,6 - 51,8% mai crescute faţă de lotul martor. O tendinţă similară s-a observat şi în cazul enzimei gama glutamiltransferaza, investigată tot în muşchi. Studiul nostru a relevat, că valorile lactat dehidrogenazei (LDH) în muşchi la LE au fost cu 3,7 - 29,0% mai mare faţă de LM. În plus, valorile creatinkinazei în muşchi la LE 1 şi 2 (doze minime şi mici de produs testat) au fost cu 29,3 - 90,0% mai mari faţă de martor, pe când dozele mai mari de produs testat au indus o slabă tendinţă de scădere a acestei enzime.

Prin urmare, remediul ZooBioR studiat pe găinile ouătoare, manifestă efecte benefice asupra proceselor metabolice derulate în ţesutul muscular, constatare confirmată prin intermediul indicatorilor productivi mai buni la aceste păsări.

INFLUENȚA REMEDIULUI ZooBioR ASUPRA STĂRII FUNCȚIONALE A FICATULUI, PRODUCȚIEI ȘI CALITĂȚII OUĂLOR DE GĂINĂ ÎN PRIMA FAZĂ TEHNOLOGICĂ DE OUAT

https://doi.org/10.52757/imb21.091

Macari V.[1], Gudumac V.[2], Rotari L.[1], Pistol Gh.[1], Putin V.[1], Rotaru A.[1], Pantea V.[2]

[1]Univesitatea Agrară de Stat din Moldova

[2]Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu", Republica Moldova

e-mail: macvasile@mail.ru

Creșterea păsărilor a luat o amploare din ce în ce mai mare în ultimii ani, datorită rolului esențial pe care îl are avicultura în asigurarea populației cu produse alimentare accesibile. Evident, calitatea produselor de origine animală depinde de tehnologiile practicate în unitățile zootehnice, în special de originea și calitatea medicamentelor administrate la animale. Actualmente, din gama largă de medicamente de uz veterinar, o mare parte sunt de origine sintetică, pe când o prioritate justificată au remediile de origine naturală. Analiza situației din domeniul dat atestă faptul că un interes deosebit pentru știință și practică prezintă produsul cianobacterian – ZooBioR, însă lipsesc date cu referire la impactul acestui produs asupra păsărilor, în special asupra găinilor ouătoare, inclusiv privind dozele de administrare.

Investigațiile științifice s-au efectuat pe păsările din cadrul întreprinderii SRL – „*Acustic Tehnologic*", din satul Floreni. În acest studiu, axat pe investigarea produsului ZooBioR, au fost folosite 5 loturi de păsări (a câte 14 găini în fiecare), dintre care 1 lot martor și 4 loturi experimentale (LE), aflate în prima fază tehnologică de ouat. Preparatul testat a fost administrat păsărilor cu hrana, la toate 4 loturi experimentale, în diferite doze (5,0; 10,0; 15,0 și 20,0 mg substanță activă/kg furaj). Păsările antrenate în experiment au beneficiat de aceleași condiții, microclimat și asistență veterinară, conform prevederilor aplicate la această unitate zootehnică. Remediul testat, până a fi administrat păsărilor, a fost înglobat în furaje concentrate, printr-o omogenizare minuțioasă, pe când lotul de control a fost întreținut la un regim alimentar obișnuit. Păsările incluse în cercetare au fost monitorizate permanent și examinate pentru evaluarea stării de sănătate. La debutul studiului, pe durata acestuia, precum și la finele lui, găinile au fost cântărite individual, s-a determinat temperatura corporală și frecvența mișcărilor respiratorii pe minut. În paralel, pentru investigațiile de laborator ale țesutului hepatic au fost sacrificate câte 5 găini din fiecare lot, de la care s-au recoltat porțiuni din acest organ, din același loc.

Investigațiile realizate au avut o durată de cca 4 luni (129 de zile), perioadă în care păsările zilnic au beneficiat de hrană suplimentată cu preparatul ZooBioR. În această perioadă relativ lungă de timp, găinile - ouătoare, aflate în prima fază tehnologică de ouat nu au manifestat reacții adverse sau alte dereglări de sănătate la nivelul întregului organism; la nivel de aparat digestiv; la nivel de apetit sau mase fecale. Analiza indicilor marcher ai metabolismului proteic în țesutul hepatic atestă faptul, că proteinele totale la LE 2 și 3 (10,0; 15,0 mg substanță activă/kg furaj) au scăzut cu 0,7 - 3,7% față de valorile lotului martor și cu 2,4 - 6,0%, respectiv, față de celelalte 2 LE. Albuminele în ficat la LE 2, 3 și 4 s-au diminuat cu 2,9 - 4,0% față de control. Important este și faptul, că ALT în țesutul hepatic a avut o tendință de diminuare, dependentă de doza produsului testat. Valorile fosfatazei alcaline, la LE 1 și 2 (doza minimă și mică) sunt de 2,1 - 2,7 ori mai reduse față de control. Producția numerică de ouă, precum și intensitatea ouatului, la toate 4 loturi experimentale, a fost mai mare față de lotul martor. S-a stabilit, că parametrii morfologici ai ouălor de găină pe durata păstrării s-au modificat esențial. Astfel, utilizarea ZooBioRului, în special administrat cu hrana în doză de 10 mg substanță activă/kg/furaj, contribuie esențial la menținerea prospețimii și evident a calității ouălor.

Prin urmare, remediul ZooBioR influențează pozitiv sănătatea găinilor, contribuind la ameliorarea stării funcționale a ficatului, rezultate benefice, reflectate în parametrii cantitativi și calitativi ai producției de ouă.

REMEDIUL BioR – MEDICAMENT EFICIENT ÎN AMELIORAREA POTENŢIALULUI REPRODUCTIV LA IEPUROAICE

https://doi.org/10.52757/imb21.092

Maţencu D., Macari V., Rotari A., Didoruc S.
Universitatea Agrară de Stat din Moldova
e-mail: d.matencu@mail.ru

Creşterea şi exploatarea iepurilor se prezintă, în ultimii ani, ca o ramură nouă a zootehniei, practicându-se tot mai des metode intensive şi chiar superintensive de creştere a acestora. În astfel de împrejurări tehnologice adesea apar dereglări metabolice, inclusiv şi la nivel de sistem reproductiv la iepuroaice. Numeroase cercetări atestă rolul decisiv al influenţei unor remedii bioregulatoare asupra potenţialului reproductiv la animale, în special la iepuroaice. În tratamentul sau prevenirea afecţiunilor acestui aparat, cât şi potenţialului adaptiv la animale în general, un interes deosebit prezintă remediile medicamentoase de origine vegetală.

S-a elucidat influenţa produsului BioR asupra sănătăţii şi potenţialului reproductiv la iepuroaice, în 4 serii de cercetări. În primul studiu, remediul testat a fost administrat intramuscular la 2 loturi experimentale (LE) a câte 1,5 şi 2,5 ml/cap, pe când la LM – 1,0ml ser fiziologic. În acest studiu, considerat de sondaj, doza mai bună a fost de 1,5 ml/cap, care şi a stat la baza realizării celui de al 2-lea experiment, întreprins cu scopul stabilirii dozei optime de BioR, realizat pe 28 iepuroaice, divizate în 4 loturi a câte 7 capete în fiecare lot. Aici, un lot a fost martor şi 3 LE, la care BioR s-a administrat în diferite doze: 1,0; 1,5 şi 2,0 ml/cap. Acest remediu s-a administrat de 2 ori intramuscular: la debutul studiului cu 5 - 7 zile până la montă şi la a 14-a zi de gestaţie. Studiul 3 a inclus 3 loturi: 1 lot martor şi 2 experimentale: LE 1cu BioR (doza 1,5 ml/cap) şi LE 2 cu utilizarea produsului alternativ Fosprenil. Seria a IV-a de experienţe a avut un caracter ştiinţifico - practic de implementare a procedeului de fortificare a sănătăţii şi stimulare a potenţialului reproductiv la iepuroaice. În cercetare au fost folosite 60 de iepuroaice pe parcursul ciclului reproductiv: până la montă, gestaţie, lactaţie. În toate serile de experienţe animalele au fost permanent monitorizare, cazate şi exploatate în aceleaşi condiţii. Pe durata studiilor s-au determinat parametrii clinici: temperatura corporală, contracţiile cardiace şi respiraţia atât la iepuroaice, cât şi la progeniturile acestora. În plus, de la animale au fost recoltate probe de sânge pentru investigaţii de laborator. Masa corporală a tuturor iepurilor vii la naştere (cuib) s-a determinat printr-o cântărire unică a tuturor puilor, precum şi la termenii ulteriori. Pentru stabilirea evoluţiei performanţelor productive a tineretului cunicul, la finele studiilor respective, iepuraşii au fost cântăriţi individual.

În toate cercetările s-a stabilit, că atât iepuroaicele, cât şi progeniturile acestora au tolerat bine remediul testat atât la nivel local (iepuroaice), cât şi la nivel de întreg organism. Indicatorii clinico - hematologici semnalaţi la animalele luate în studiu permit să evidenţiem proprietăţi adaptative şi antistresorii ale produsului testat. În plus, BioR a manifestat însuşiri evidente de fortificare a potenţialului reproductiv la iepuroaice, ipoteză bazată pe următoarele rezultate ştiinţifice. În studiul de sondaj, numărul progeniturilor vii la naştere în LE a fost cu 1,9 - 9,2% mai mare în raport cu LM, respectiv mai mare a fost şi greutatea unui pui viu la naştere, creşterea fiind de 5,3 -10,75 g (+ 9,8 - 20,0%), capacitatea de alăptare a iepuroaicelor din LE de asemenea a fost mai mare faţă de martor. În studiul II, numărul puilor din LM a constituit 7,50 ± 0,61 capete, valoare mai redusă cu 2,17 - 2,93 capete în raport cu datele obţinute în LE. Valori mai mari au fost semnalate în cazul masei cuibului la naştere, numărului puilor pe durata studiului şi lactaţiei iepuroaicelor din LE faţă de LM, rezultate analoage constatate şi în cazul studiului III.

Rezultatele obţinute în cele 3 cercetări ştiinţifice, au fost totalmente confirmate şi aprobate în studiul ştiinţifico - practic de implementare a procedeului de fortificare a sănătăţii şi de stimulare a potenţialului reproductiv la iepuroaice.

INFLUENȚA pH - ULUI MEDIULUI NUTRITIV ASUPRA CREȘTERII ȘI DEZVOLTĂRII TULPINII DE FUNGI *BEAUVERIA BASSIANA* CNMN-FE-01

https://doi.org/10.52757/imb21.093

Moldovan Anna, Munteanu - Molotievskiy Natalia, Toderaș Ion
Institutul de Zoologie, str. Academiei 1, MD 2028, Chișinău, Republica Moldova
e-mail: anna.moldovan@yahoo.com

Pentru combaterea insectelor dăunătoare se utilizează pe larg insecticidele chimice. Acestea sunt cauza unor probleme majore asociate cu sănătatea umană și conservarea biodiversității. Necesitatea identificării unor alternative insecticidelor chimice a stimulat interesul pentru elaborarea metodelor inofensive de control al populațiilor de insecte dăunătoare, readucând în atenția cercetătorilor metodele biologice de control.

Unele tulpini de microorganisme sunt deja utilizate pentru a combate insectele dăunătoare, activitatea insecticidă a altora este în proces de investigare. *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. 1912 (*Hypocreales, Cordycipitaceae*) este unul dintre cei mai utilizați agenți fungici de control biologic al insectelor. Pentru a produce biopreparate eficiente în baza tulpinilor fungice sunt necesare date privind răspunsul acestora la acțiunea diferitor factori fizici și chimici. Factorii abiotici de mediu precum temperatura, umiditatea, pH-ul, salinitatea ș. a., influențează creșterea vegetativă a tulpinilor fungice, formarea sporilor și viabilitatea acestora. Persistența și virulența tulpinilor fungice aplicate în condiții de câmp pot fi afectate de valoarea pH a solului și de pH-ul de la suprafața cuticulei insectei gazdă. De asemenea, la aplicarea tulpinilor de fungi entomopatogeni concomitent cu pesticidele chimice, trebuie de luat în considerație faptul, că hemocelul insectelor expuse la preparate chimice devine alcalin. Cercetările din ultimii ani au subliniat faptul, că răspunsul tulpinilor fungice la acțiunea factorilor de mediu depinde de specie și ecotip, și au elucidat, că activitatea insecticidă depinde de anotimp. Este cunoscut faptul, că factorii fizici influențează creșterea și dezvoltarea tulpinilor fungice în condiții naturale, totuși puține dintre studiile realizate în ultimii ani au urmărit caracterizarea particularităților fiziologice ale agenților de control biologic din această perspectivă.

Scopul cercetărilor a fost de a investiga influența valorii pH a mediului nutritiv asupra creșterii și dezvoltării tulpinii de fungi *Beauveria bassiana* CNMN-FE-01, agent de control biologic al coleopterelor curculionide (Brevet de invenție MD 4560). A fost studiată viteza de creștere radială a tulpinii *Beauveria bassiana* CNMN-FE-01, pe mediul nutritiv PDA (Potato Dextrose Agar, Merck) la diferite valori ale pH (5,0; 6,0; 7,0; 8,0 și 9,0). De asemenea, a fost evaluată cantitatea de conidii produse per unitate de suprafață și rata de germinare a tulpinii fungice după cultivare pe mediul nutritiv PDA cu diferite valori ale pH, timp de 90 de zile, la temperatura de +25°C. Analiza unifactorială de varianță (ANOVA) a fost utilizată pentru validarea datelor obținute.

În rezultatul cercetărilor realizate a fost constatat, că în intervalul de valori ale pH = 5 – 9, statistic, tulpina *Beauveria bassiana* CNMN-FE-01 prezintă diferențe semnificative între vitezele de creștere radială, iar în intervalul pH = 6 - 8, diferențele atestate sunt nesemnificative. Optimul de creștere a fost situat în intervalul pH = 6 - 7. Viabilitatea conidiilor crește la cultivarea tulpinii pe mediul nutritiv cu pH = 5, însă cantitatea de conidii produse scade, iar la valorile pH > 6 se reduce atât cantitatea de conidii produse, cât și viabilitatea acestora. Astfel valoarea optimă a pH - ului pentru creșterea și dezvoltarea tulpinii de fungi *Beauveria bassiana* CNMN-FE-01 este pH = 6.

Studierea efectului diferitor factori fizici asupra creșterii și dezvoltării tulpinilor de micromicete cu potențial insecticid înalt sunt esențiale pentru prognozarea eficacității tulpinii selectate în condiții de câmp, elaborarea formulei biopreparatului, recomandărilor de aplicare și ajustarea dozelor utilizate în dependență de condițiile mediului receptor.

Rezultatele științifice expuse au fost obținute în cadrul proiectului 20.80009.7007.12 „Diversitatea artropodelor hematofage, a zoo - şi fitohelminţilor, vulnerabilitatea, strategiile de tolerare a factorilor climatici şi elaborarea procedeelor inovative de control integrat al speciilor de interes socio-economic”, finanțat de Agenția Națională pentru Cercetare și Dezvoltare (ANCD), Republica Moldova.

A YEAST STRAIN ADAPTED TO SELENIUM AS A PROMISING SOURCE OF SELENIUM FODDER ADDITIVES

https://doi.org/10.52757/imb21.094

Moroz Irina, Pavlyuk Anastasia, Sapunova Leanida
Institute of Microbiology, NAS Belarus, Minsk, Belarus
e-mail: *irmorz@gmail.com*

Selenium is an essential metallic element not synthesized in human or animal body. It is a bioactive microelement with antioxidant properties that can enhance the immune status and activate the DNA repairing enzymes. It is incorporated non-specifically into the proteins and thus is effectively retained in animal and human tissues [1, 2]. Selenium deficiency provokes several pathological conditions, and so there is a constant need of the selenium-containing alimentary and feed additives. Nowadays both inorganic and organic selenium compounds are applied at stock breeding farms. The former are represented by selenite and selenate, and are characterized by low bioaccessibility and high toxicity. The latter exist in the form of selenomethionine or selenocysteine and are the most readily assimilable compounds of selenium. In biotechnology the source of organic selenium is yeast cultures, mainly Se-adapted strains of the *Saccharomyces* and *Candida* genus. Despite a relatively broad array of seleniferous feed products available at the global market, studies aimed at the selection of new strains and obtaining novel selenium-enriched biopreparations with high cumulative effect and low toxicity are still extremely relevant.

Earlier we had tested sodium selenite resistance of 20 collection yeast cultures and 11 natural isolates. The purpose of of this study was to choose a yeast culture actively accumulating selenium and to select a variant adapted to high selenium concentrations.

Yeast strains were grown in submerged culture in the YPD nutrient medium with sodium selenite (25 mg/l). The suspension of yeast cells was pre-grown for 24 h in the afore-mentioned medium until the $OD_{600} = 0.2 \pm 0.02$ was reached, and then it was used as the inoculum. In the end the culture biomass was separated from the cultural liquid, washed thrice and desiccated. The biomass accumulation was estimated spectrophotometrically and expressed in optical density units at the wavelength of 600 nm. Selenium was determined in the dry yeast samples and in the cell-free cultural liquids by atomic-emission spectrometry using the Shimadzu-9000 (Japan) spectrometer. The experiments were performed in triplicate.

Quantitative analysis of the selenium level in yeast cells and cell-free cultural liquids was carried out for 20 collection cultures and 11 natural isolates. As a result, there were identified 5 strains which most actively accumulated the inorganic selenium. Strain Sp. № 4 that was the most efficient in biomass accumulation and at the same time had the highest selenium content (2.474 mg/g biomass). Therefore, it was selected as the most promising for manufacturing the Se-enriched fodder products.

A multistage adaptation of the selected strain was carried out on agar media with sodium selenite to enhance its ability to accumulate selenium. The selenium concentration in this media was gradually (stepwise) increased in the following way: 50 → 75 → 100 → 125 → 150 mg/l. This adaptive selection strategy yielded the strain Sp. № 4-ASe capable of growing on media with the Se concentration of 125 mg/l.

Summing up, a step-by-step selection on sodium selenite media resulted in obtaining a yeast strain (Sp. № 4-ASe) with enhanced ability to accumulate selenium. Further studies will be conducted to identify new strains and to optimize the cultivation conditions for developing a technology of manufacturing feed products enriched with organic selenium.

Bibliography:

1. Esmaeili S., Khosravi-Darani K. Selenium-Enriched Yeast: As Selenium Source for Nutritional Purpose // Curr. Nutr. Food Sci. – 2014. – Vol. 10. – P. 49–56.
2. Lyons M.P., Papazyan T.T., Surai P.F. Selenium in Food Chain and Animal Nutrition: Lessons from Nature – Review // Asian-Aust. J. Anim. Sci. – 2007. – Vol. 20. – P. 1135–1155.

SCREENING OF GLYCOL ETHER DESTRUCTING MICROORGANISMS AS AN INITIAL STEP IN THE DEVELOPMENT OF A MICROBIAL PREPARATION FOR SOLVENT WASTEWATER TREATMENT

https://doi.org/10.52757/imb21.095

Narkevich Darya, Hlushen Alena, Kuchura Anastasiya
Institute of Microbiology, National Academy of Sciences, Belarus
e-mail: dasha.narkevich@mail.ru

Ethylene glycol ethers, especially 2-ethoxyethanol (EE) and 2-butoxyethanol (BE) have an amphiphilic structure, with the hydrophilic part interacting with water, and the lipophilic part interacting with organic solvents, which explains their solubility in both water and organic solvents such as oils. Due to this characteristic, EE and BE are widely used in industry as ingredients of paints, inks, water-based cleaners, adhesives, detergents, cosmetics, cutting fluids, agrochemicals, jet fuels and hydraulic brake fluids [1,2].

The most promising method of cleaning aqueous solutions from these pollutants is their microbial utilization. The aim of our work was screening of potential glycol ester degrading microorganisms. The strains were isolated from various natural sources and deposited in specialized collection of microbial xenobiotic decomposers of the Laboratory of Environmental Biotechnology of the Institute of Microbiology, National Academy of Science of the Republic of Belarus.

Hence, 68 isolates capable of using EE and BE as the sole source of carbon in concentrations up to 0.5% were isolated. Primary study of destructive ability by auxanographic method allowed selecting 17 isolates that showed good growth on all studied toxicants at 1% concentration. Among the collection strains, 15 bacterial cultures using glycol ethers in concentrations up to 1% were selected. The strains were cultured on E-8 medium (NaCl 0.5 g/L, $MgSO_4 \times 7H_2O$ 0.8 g/L, KH_2PO_4 0.7 g/L, $(NH_4)_2HPO_4$ 1.3 g/L, agar 22 g/L) with 0.2%, 1% and 2% of 2-butoxyethanol and 2-ethoxyethanol as the only source of carbon [3].

According to the results of the initial screening, we have shown the potential biodegradability of glycol ethers such as 2-ethoxyethanol and 2-butoxyethanol in various concentrations (0,1-2,0%). The following strains showed destructive activity on E-8 medium with 2-butoxyethanol as main source of carbon: *Rhodococcus* sp. 200N, *R. ruber* H2004, *R. erythropolis* 37F, *R. erythropolis* 70F, *R. ruber* 2B, *Rhodococcus* sp. R1, *R. opacus* 31D. These strains were characterized by active growth on E-8 medium at concentrations of 0.2%, 1% and 2% of 2-butoxyethanol.

The highest activity on E-8 medium was shown by *R. wratislaviensis* G13 on all investigated concentrations of 2-ethoxyethanol and *R. ruber* H2004 also on both concentrations of toxicant. *R. erythropolis* 70F, *R. opacus* 31D, *R. ruber* R1 were characterized by average growth activity on E-8 medium with 1% of 2-ethoxyethanol.

The results obtained above suggest that these toxicants can be biodegraded by microorganisms of the genus *Rhodococcus.* Further studies will include the adaptation of selected microorganisms to higher concentration of toxicants. It seems promising to consider these strains of microorganisms as components of a biopreparation for treating wastewater containing glycol ethers. Currently, there is no reliable information on the degradation pathways of glycol esters among the microorganisms of this genus, which is a promising direction in the study of microorganisms.

References:

1. 2-butoxyethanol: Risk assessment, European Union Risk Assessment Report / eds P. Copestake [et al.]. – Geneva: WHO, 2009. – 67. – 60 p.
2. Ethylene Glycol Ethers Induce Oxidative Stress in the Rat Brain / B. Pomierny [et al.] // Neurotox. Res. – 2014. – Vol. 26, № 4. – P. 422-429.
3. Alvarez H. M., Steinbüchel A. Biology of triacylglycerol accumulation by *Rhodococcus* //Biology of *Rhodococcus*. – Springer, Cham, 2019. – P. 299-332.

PERSPECTIVES FOR THE USE OF THE AUTOCHTHONOUS ZooBioR REMEDY IN POULTRY

https://doi.org/10.52757/imb21.096

Pistol Gheorghe
State Agrarian University of Moldova
e-mail: gheorghepistol63@gmail.com

Modern poultry farming is characterized primarily by the high efficiency of production, at the expense of scientific and technological performance obtained in this field, as well as the growth of birds in large numbers on limited areas, such as poultry houses. Currently, in poultry are widely used medicinal preparations of synthetic origin, with a number of side effects. Therefore, the study of a new class of medicinal substances, in particular with adaptogenic effect, especially of plant origin, which has approximately the same mechanism of action on the body, is justified. This category of drugs includes the remedy ZooBioR, obtained from cyanobacterium *Spirulina platensis*, tested by us for the first time on young laying hens.

The research focused on elucidating the impact of this medicinal product on the health and productivity of the hens in the first technological phase of laying, was carried out on healthy birds, in physiological conditions of poultry factory. The study involved 70 hens, divided into 4 experimental lots (EL) and 1 control lot (CL). The birds from all four ELs received in addition to the basic ration and the studied remedy, respectively 5,0; 10,0; 15,0 and 20,0 mg active substance/kg concentrated feed. The birds had been permanently monitored, during different stages of the study. In birds in each lot (5 heads each), body temperature and frequency of respiratory movements per minute were determined. At various stages of research, blood was collected for laboratory investigations. During the experiment, separated into lots, eggs were collected and counted, while individual hens were weighed to highlight their health status and well - being, as well as possible side effects of the bioactive product studied for the first time. During birds` handling (determination of body temperature, fixation, individual weighing, blood collection, etc.) to highlight the states of stress, attention was drawn to the birds` behaviour. At the end of the study, 5 hens from each lot were slaughtered. Portions of muscles from the pectoral region and liver were collected. The samples were strictly collected from the same place, in all 25 cases.

Following the monitoring and examination of the hens, in the first technological phase of laying, during the experiment, for a period of 129 days, the ZooBioR product did not induce changes in behaviour or deviations from the normal physiological state. Research has shown adaptive and anti-stress properties of the studied remedy, an assumption based on lower values of body temperature and respiration. It has been established that the tested product positively influenced the hematopoietic function, a phenomenon reflected in better values of the hematogram, as well as the nonspecific resistance of birds, when there are fewer lymphocytes and more heterophiles, values reflected in a positive balance of the heterophile/lymphocytes population. Biochemical investigations have shown positive effects of the tested remedy on protein, carbohydrate, lipid and mineral metabolism. The tested remedy fortified the functional state of the liver, a hypothesis based on better values of the marker parameters of the liver both in blood and liver tissue, values reflected in higher productions in birds treated with this product.

In conclusion, we mention that the ZooBioR remedy has a moderately positive effect of alleviating technological stress, strengthening the health and productivity of both egg production and the body mass of chickens in the first technological phase of laying.

CHARACTERIZATION, IDENTIFICATION OF A BACTERIAL CULTURE ISOLATED FROM GRAIN AND ITS APPLICATION FOR FERMENTATION OF SOYBEAN CAKE

https://doi.org/10.52757/imb21.097

Sapunova Leanida[1], Yarkhova Liudmila[1], Gorban Vitali[2]
[1]*Institute of Microbiology, Belarus National Academy of Sciences, Minsk, Belarus*
e-mail: leonida@mbio.bas-net.by
[2]*SOYTEX LTD, Paphos, Republic of Cyprus*
e-mail: v.gorban@soytex.com

Protein deficiency in animal rations determines a sharp increase in demand of fodder and feed additives containing non-conventional protein sources of animal and plant origin. The most attractive solution of the problem is development of resource-saving and *wasteless* technologies of producing feed protein from vegetable processing residues, e.g. cakes of oil seed cultures. Microbial and microbial-enzymatic fermentation can significantly improve the nutritive value, assimilation and flavor of the end product by enriching its protein content and decreasing the ratio of hardly digestible ingredients.

Earlier bacterial strain ST-4 actively utilizing soybean cake components as sources of energy and nutrition was isolated from grain of cereal crops. Aim of this paper was investigation of cultural-morphological and physiological-biochemical characteristics of strain ST-4, its preliminary identification and assessment of application prospects for manufacturing protein-upgraded feed product derived from fermentation of soybean cake.

Bacterial culture was grown on meat-peptone agar medium at 27–29°C for 72 h and maintained at 8–10°C by regular transfers. Preliminary identification of microbial strain was based on cultural-morphological and physiological-biochemical properties. Fermentation of soybean cake, after soaking with tap water, was carried out at temperature 20–32°C during 12–72 h using aqueous suspension of bacterial cells grown under above-mentioned conditions. The fermentation product was dried by convection technique at 50°C until residual moisture content ≤10%. Microbiological, biochemical and physical properties of intact and fermented soybean cake were established by generally recognized methods. The experiments were performed in triplicate.

Statistical processing of the obtained data was performed using software from Microsoft Office Excel 2010 package.

Based on analysis of cultural-morphological and physiological-biochemical peculiarities, the isolate ST-4 was referred to bacteria of genus *Paenibacillus*. The tests *performed* on laboratory animals revealed that this culture did not display pathogenic, allergenic and toxigenic action. Fermentation of soybean cake by *Paenibacillus sp.* strain ST-4 resulted in synthesis of extracellular enzyme complex involved in depolymerization of substrate constituents – xylan, glucan, cellulose, phytate, starch, lipids, pectins, proteins.

Conditions favoring fermentation of soybean cake by *Paenibacillus sp.* strain ST-4 were defined, allowing it to increase crude protein content in the end product at least by 6.2 %. The study was conducted in the independent accredited laboratory to evaluate quality of native and fermented soybean cake in the course of scale-up process under optimized conditions. The analysis of product composition has shown that microbial treatment of soybean cake enhanced concentration of crude protein by 11.3 % (including amino acid content by 9.1 %) and diminished crude fiber ratio by 39.5 %. Moreover, the analysis did not reveal trypsin inhibitor and urease activity, the levels of glycinin, beta-conglycinin and lectins dropped by 95.5–95.9 %, oligosaccharides by 92.9–93.5 %, phytin phosphorus by 24.4–29.3 % in comparison with raw waste substrate.

In conclusion, *bacterium Paenibacillus sp.* strain ST-4 turns out to be extremely suitable for the transformation of hardly digestible polymers and inaccessible substances of plant origin. The results of performed and planned investigations dealing with molecular-genetic identification of bacterial strain and optimization of soybean fermentation conditions will lay the basis for elaboration of eco-friendly technology for manufacturing h*igh-quality* protein fodder product (rich-protein fodder product) from seed-processing wastes of soybean and other oleaginous cultures.

EFFECT OF ETHANOL ON PROPERTIES OF GLUCOSE OXIDASE OF *PENICILLIUM ADAMETZII*

https://doi.org/10.52757/imb21.098

Semashko T.V., Ustsinovich S.E., Zhukouskaya L.A.
Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
e-mail: tsemashko@mbio.bas-net.by

Biotechnology development prospects are intercorrelated with studies of enzymes – protein biocatalysts showing unique sensitivity and specificity of sharp demand in clinics, various industries and agriculture.

Glucose oxidase (β-D-glucose: O_2-1-oxidoreductase, E.C.1.1.3.4) catalyzes oxidation of β-D-glucose to β-D-glucose-δ-lactone and hydrogen peroxide using molecular oxygen as electron acceptor.

Glucose oxidase is indispensable in medical practice. Stability and high specificity of action make it an ideal object for enzymatic glucose determination method and application in sensor technologies used for express assays of carbohydrates and analytical control of bioprocesses. Therapeutic role of glucose oxidase was demonstrated for treatment of fresh and infected words, burns, frost injuries, stomatitis, and pyo-inflammatory skin diseases. The enzyme is applied in chemical industry to manufacture gluconic acid, gluconates, hydroquinone, propylene bromohydrine and in food processing as the preservative agent.

Active glucose oxidase producers are filamentous fungi, especially representatives of genera *Aspergillus* and *Penicillium*. The cultures *A. niger*, *P. amagasakiense*, *P. vitale* are used for large-scale production of enzyme preparations.

Nowadays glucose oxidase investigations are carried out at various research centers in UK, Germany, Greece, Italy, Russia, USA, France, and Japan. The studies are mainly focused on seeking novel superactive sources of extracellular glucose oxidase, deciphering mechanisms governing enzyme synthesis, characterizing physical-chemical properties of biocatalysts, locating new application areal.

Earlier highly active *P. adametzii* strain – glucose oxidase producer was selected at laboratory of enzymes, Institute of microbiology, NAS of Belarus.

Aim of this research is to evaluate effect of ethanol on fungal biosynthesis of glucose oxidase and to assess stability of the enzyme.

The fungus in liquid nutrient medium of optimized composition with addition of 0.5-2.0% ethanol was grown. It was established that under conditions of ethanol stress hydrophilic spores over hydrophobic ones predominated. Increasing of ethanol concentration leads to decrease of ability of fungal spores to aggregation. Ethanol affected on accumulation of fungal biomass too. Using 0.5-1.0% ethanol the level of extracellular glucose oxidase synthesis was increased by 19-33% but further increase its concentration (to 2%) leads to decrease this indicator by 44%. The addition of ethanol influenced on final pH of medium. It was declined by 5.0-6.0%.

At the next stage, thermal stability of glucose oxidases synthesized by the strain under ethanol stress was tested. The thermal stability was evaluated by residual activity and inactivation constants of enzyme solutions after 15-60 min of heating at 40 and 50°C (0.1 M phosphate buffer pH 3.5). It was found that all enzymes did not differ after hour incubation at 40 C, the residual activities of glucose oxidases were 6.5-19.4%, the inactivation constants were 0.0005-0.0008 s^{-1}.

After 50°C hour incubation the residual activity (1.5%) was retained only in the control variant. The obtained under conditions of ethanol stress (0.5-1.0%) enzymes lost their activity after 15-30 minutes completely. The inactivation constants of these glucose oxidases were 0.0051-0.0052 s^{-1}. This was in 2.8 times more than in control variants.

Thus ethanol stress affected on fungal sporogenesis, level of extracellular glucose oxidase biosynthesis and stability of the enzymes at 50°C.

LOCAL ISOLATES OF ENTOMOPATHOGENIC BACULOVIRUS AS A SPECIFIC, SAFE, AND EFFECTIVE TOOL FOR *HYPHANTRIA CUNEA* DRURY

https://doi.org/10.52757/imb21.099

Stingaci Aurelia, Volosciuc Leonid
Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection, the Republic of Moldova
e-mail: aurelia.stingaci@gmail.com

Biopesticides are biological pest control agents that are viewed as safer alternatives to the synthetic chemicals that dominate the global insecticide market. A series of problems in the field of plants protection and the growing of ecological products can be solved using three important biological agents: insects, microorganisms (viruses) and bacteria (*B. thuringiensis*, etc.) bioactive substances.

Baculoviruses only infect insects, are ubiquitous in the environment and are known to be important in the regulation of many insect populations. Baculoviruses are host specific, infecting only one or a few closely-related species, helping to make them good candidates for management of crop and forest insect pests with minimal off-target impacts (Hewson et al., 2011). In fact, baculoviruses have been recognized as being amongst the safest of pesticides (Chandler et al., 2011; Ehlers, 2011).

This work presents the results of biological control of *H. cunea* populations with a baculoviral product. In the report there are also submitted the results of the joint application of the biological preparation Virin ABB-3. The preparation is based on viruses of nuclear polyhedrosesis and granuoses with cumulative and synergetic action. In such context, the problem is connected to large application of baculoviral preparation that have become a reality only by elaboration and organization of production of such biological means, work registered after execution of deep biotechnological researches.

The recognition of the necessity for the application of the entomopathogenic viruses and baculoviral preparations elaborated on their basis is determined by the qualitative originality of the pathogenic agents, among which their specificity and epizootic character constitute the main advantages compared with the chemical insecticides. Baculoviral improved product Virin ABB-3 was tested in laboratory against *H. cunea* larvae. In the report there are also submitted the results of the joint application of the biological preparation Virin ABB-3. But in the options there were used both viruses VG and VPN (1:1), the mortality increased from 88% to 92%.

A major constraint on the wider adoption of biopesticides is their susceptibility to the ultraviolet (UV: 290–400 nm) radiation in sunlight, which limits their persistence and efficacy. A number of materials that absorb specific wavelengths, including specialized dyes, chemicals and natural substances such as lignin sulfate, polystyrene latex, Congo Red, green tea, antioxidants, iron oxide and others have been tested to improve the residual activity of entomopathogenic viruses (Sporleder, 2003;Asano, 2005;Arthurs et al., 2006;. Molasses, sucrose and skimmed milk powder have also been reported to slightly improve persistence of CpGV (Charmillot et al., 1998; Ballard et al., 2000b).

Here, we describe a formulation technology for biopesticides in which the active ingredient (baculovirus) is an active coal. Importantly, this indgredient protects the sensitive viral DNA from degrading in sunlight, but dissolves in the alkaline insect gut to release the virus, which then infects and kills the pest. We show, using this ingredient, in both laboratory bioassays and field tests, that this can extend the efficacy of the biopesticide well beyond the few hours of existing virus formulations, potentially increasing the spray interval and reducing the need for high application rates. The new formulation has a shelf-life at 30 °C of at least 6 months, which is comparable to standard commercial biopesticides and has no phytotoxic effect on the host plants. These findings suggest that the new formulation technology could reduce the costs and increase the efficacy of baculovirus biopesticides, with the potential to make them commercially competitive alternatives to synthetic chemicals.

ANTAGONISMUL NOILOR IZOLAȚI DE CIUPERCI DIN GENUL *TRICHODERMA* ÎN RAPORT CU ANGENTUL PATOGEN *ALTERNARIA* SP.

https://doi.org/10.52757/imb21.100

Scerbacova Tatiana, Crucean Ștefan
Institutul de Genetică, Fiziologie şi Protecţie a Plantelor, Republica Moldova
e-mail: tscerb@gmail.com

Condițiile meteorologice la începutul sezonului de vegetație 2020 în Republica Moldova au fost favorabile pentru dezvoltarea alternariozei la majoritatea plantelor de cultură, plante din flora spontană şi plante ruderale. Ciupercile din genul *Alternaria* se dezvoltă intensiv când este umiditate sub formă de ploaie și rouă, iar cantitatea totală de precipitații în lunile mai, iunie și iulie a fost de 263 mm la o normă de 181 mm, ceea ce a favorizat atacul plantelor de către agentul patogen. Ciupercile genului *Alternaria* duc la formarea pătărilor pe suprafața limbului foliar, ceea ce duce la alterarea sistemului fotosintetic a plantelor și la pierderea productivității. Mucegăirea şi putrefacția semințelor, fructelor și rizomilor – încă un tip de daună al acestui agent patogen (Ганнибал Ф.Б., 2011). Speciile de *Alternaria* sintetizează toxine periculoase, care se pot acumula în produsele agricole atacate și se păstrează în produse după prelucrare. Pentru inhibarea dezvoltării și răspândirii ciupercilor din genul *Alternaria*, micșorarea daunei și diminuarea presingului pesticidelor se recomandă utilizarea preparatelor biologice, inclusiv în bază de ciuperci din genul *Trichoderma*.

Cercetările noastre vizează acțiunea antagonistă a cinci tulpini noi de ciuperci din genul *Trichoderma,* care au fost izolate anul acesta din substraturi naturale. Obiectul test a fost agentul patogen *Alternaria* sp. izolată din frunze de nuc. La fel au fost utilizate sușele *Trichoderma virens* CNMN-FD-13, 3X și *T. lignorum* CNMN-FD-14, M-10, producători ai preparatelor Gliocladin-SC și, respectiv, Trichodermin-SC.

Activitatea antagonistă în raport cu agentul patogen *Alternaria*. sp a fost cercetată prin metoda culturii duble pe mediu nutritiv agarizat. Raza coloniilor a fost măsurată zilnic cu ajutorul riglei (mm). La a cincea zi de cultivare a fost determinat parametrul inhibării agentului patogen de către ciupercile din genul *Trichoderma* (%). În a zecea zi a fost stabilit tipul relației dintre agentul patogen și producător.

Ciupercile din genul *Trichoderma* au o creștere rapidă. În cultura dublă timp de 4 zile coloniile izolaților nr. 1, 2, 3, 4 și sușa *T. lignorum* au atins mărimea de 80x80 mm și au ocupat întreaga suprafață a cutiei Petri. Izolatul nr.5 și sușa *T. virens* au ocupat întreaga suprafață la a cincea zi. Coloniile agentului patogen *Alternaria* au fost diverse: în cutia cu izolatul nr.3 raza coloniilor agentului patogen a fost de 2 mm, iar izolatul nr.5 a permis ca agentul patogen să dezvolte o colonie cu raza de 12 mm. Indicele inhibării agentului patogen *Alternaria* de către ciuperca *Trichoderma* pentru izolatul cu nr.3 a fost de 90 %, pentru izolatul nr.2 – 85%, izolatul nr.4 – 75 %, izolatul nr.1 – 65 %. Izolatul nr.5, *T. virens* și *T. lignorum* au inhibat creșterea agentului patogen cu 40-50%. În rezultatul cercetărilor efectuate a fost determinat că izolatele de *Trichoderma* nr. 1, 2, 3, 4 și sușa *T. virens* manifestă antagonism fungistatic alimentar (unidirecțional), care se manifestă prin creșterea coloniei producentului peste colonia agentului patogen. Sușa *T. lignorum* a manifestat antagonism teritorial – extinderea rapidă a coloniei datorită vitezei înalte de creștere. Nu a avut loc suprapunerea cu colonia agentului patogen, dar sa observat inhibarea acestuia. Din cinci tulpini de *Trichoderma*, care au fost izolate din natură, patru manifestă antagonism față de *Alternaria* sp. Izolații pot fi utilizați pentru elaborarea mijloacelor biologice de protecție contra alternariozei.

Mulţumiri: Cercetările au fost efectuate în cadrul Proiectului „Sinergismul dintre factorii naturali şi mijloacele microbiologice, ecologic inofensive, de reglare a densităţii populaţiilor de organisme dăunătoare pentru protecţia culturilor agricole în agricultura convenţională şi ecologică", nr. 20.80009.7007.16.

THE BEER YEAST BIOMASS AS A VALUABLE SOURCE OF LIPIDS

https://doi.org/10.52757/imb21.101

Tofan Elena, Chiselița Natalia, Chiselița Oleg, Beșliu Alina,
Efremova Nadejda, Lozan Ana, Daniliș Marina
Institute of Microbiology and Biotechnology, the Republic of Moldova
e-mail: biotehnol_asm@mail.ru

The use of oleogenic bioproducts of plant and animal origin is becoming increasingly common in such fields as medicine, food production, pharmaceuticals, cosmetics, and animal husbandry. The elaboration of oleogenic preparations remains an important field and depends on obtaining new biomaterials for the needed products.

Microbial lipids present a promising alternative source in these matters. They can be obtained at a much lower cost than the plant and animal lipids, due to the high growth rate of the microorganisms, large amount of produced biomass and minimal nutritional requirements. In this context, the yeast biomass is particularly promising. It is obtained in significant quantities during the beer production and is often wasted in the ways that damage the environment.

According to the literature, the lipid content of the yeasts of the genus *Saccharomyces* ranges from 1,2 to 3,4% [1, 2] and can reach up to 12% of the ADB of the yeasts. The cell wall and membranes of the yeast cells are made up of free lipids that are complexed with other substances. Fatty acids (1-20%), phospholipids (15-60%), triglycerides (20-50%), mono-, diglycerides (1-15%) and sterols (up to 18%) with ergosterol account for up to 80% of the total lipids in *Saccharomyces* yeast lipids [3].

Since the yeast is typically wasted after about five fermentation cycles, we decided to see if this waste can be used as a source of lipids. Thus, the purpose of this research was to measure the lipid content in the yeast biomass after five (B/M G5) and ten (B/M G10) beer fermentation cycles in the Kellers factory in Budești village, municipality Chisinau.

It was found that the amount of lipids in yeast biomass varied depending on the number of fermentation cycles after which it was taken. Thus, in B/M G5 the lipid content was 2,4±0,1% and in B/M G10 it was practically doubled and constituted 5,3±0,1% of ADB. The higher lipid content of B/M G10 can be explained by increased lipid synthesis at the late stages of development after 10 cycles of fermentation (to the detriment of the protein and carbohydrate synthesis).

The fractional composition of lipids was determinated using the thin-layer chromatography and densitometry. It was found that the lipids from both cases, although in different amounts, included phospholipids, sterols, mono-, di-, triglycerides, sterol ethers and waxes.

Thus, the conclusion is that the wasted yeast biomass from the beer industry is an important source of lipids with valuable biochemical composition and should be used for obtaining different oleogenic products.

References:

1. Sgarbieri, V. C., Alvim, I. D., Vilela, E. S. D., Baldini, V. L. S., Bragagnolo, N. Produtto piloto de derivados de levedura *(Saccharomyces* sp.) para uso como ingrediente na formulacao de alimentos. Brazilian Journal of Food Technology, 1999, vol. 2, (1/2), p. 119-125
2. Thammakiti, S., Suphantharika, M., Phaesuwan, T., Verduyn, C. Preparation of spent brewer's yeast β-glucans for potencial applications in the food industry. International Journal of Food Science and Technology, 2004, vol. 39(1), p. 21-29.
3. Меледина, Т.В., Давыденко, С.Г. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Морфология, химический состав, метаболизм: Учеб. пособие. – СПб.: Университет ИТМО, 2015. – 88 с.

The research was carried out within the project 20.80009.5107.16 "New biologically active microbial preparations for increasing the reproductive and productive potential of animals of zootechnical interest", funded by NARD.

INFLUENȚA UNOR COMPUȘI COORDINATIVI AI Cu(II) ȘI INTENSITĂȚII LUMINII ASUPRA CONȚINUTULUI DE EXOPOLIZAHARIDE SULFATATE PRODUSE DE CIANOBACTERIA *SPIRULINA PLATENSIS*

https://doi.org/10.52757/imb21.102

Turcan Olga
Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Republica Moldova
e-mail: turcanolga2019@mail.ru

Microorganismele marine au fost cercetate în ultimele decenii, ca surse de diferiți biocompuși, fiecare cu diverse aplicații. Polizaharidele sulfatate (PS) se numără printre aceste substanțe chimice produse și eliberate de microalgele marine (incluzând cianobacterii și microalge eucariote din mai multe diviziuni). PS s-au dovedit deja a fi agenți promițători în diverse domenii, cum ar fi alimentație, farmaceutică și medicină. Ele pot fi aplicate și în tratarea apelor uzate și / sau a solului și în unele domenii de inginerie. PS prezintă aplicații terapeutice bazate pe activitățile lor antivirale și antibacteriene, proprietăți antioxidante, caracteristici antiinflamatorii și imunomodulatoare, activitate antitumorală și proprietăți antilipidemice și antiglicemice.

Astfel, devine actuală investigarea posibilităţilor de majorare a conţinutului de polizaharide sulfatate la cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis*. Scopul investigaţiilor a fost studiul influenţei unor compuşi coordinativi ai Cu(II) asupra sintezei exopolizaharidelor (epz) sulfatate în lichidul cultural al cianobacteriei *Spirulina platensis*. În calitate de stimulatori ai sintezei de epz au fost utilizaţi compuşii coordinativi ai Cu(II) cu produşii condensării obţinute din 2-amino-2-metil-1,3-propandiol şi aldehide salicilice substituite: **Pk1** - $C_{11}H_{16}ClCuNO_4$, **Pk3** - $C_{11}H_{19}BrClCuNO_6$, **Pk9** - $C_{11}H_{18}CuN_2O$, **Pk11** - $C_{13}H_{23}CuNO_9$, **Pk13** - $C_{12}H_{16}BrCuNO_4$. Compuşii au fost suplimentaţi la mediul de cultivare al spirulinei în concentraţii de 0,005 mmol/l; 0,01mmol/l şi 0,015 mmol/l, cultura a fost crescută timp de 7 zile la intensitatea luminii de 3600 lx şi 4700 lx. Polizaharidele sulfatate au fost determinate prin metoda cu alcian blue.

În rezultatul experienţelor efectuate a fost stabilit că toţi compuşii coordinativi utilizaţi manifestă un efect pozitiv asupra sintezei exopolizaharidelor. A fost observat că odată cu creşterea concentraţiei compuşilor creşte şi conţinutul de epz sulfatate. Cele mai înalte valori ale conţinutului de epz sulfatate în lichidul cultural de spirulină au fost atestate la administrarea compuşilor în concentraţia maximă (0,015 mmol/l). Astfel un conţinut maxim de epz sulfatate fost atestat la administrarea compusului Pk13 în concentraţie de 0,015 mmol/l, înregistrându-se valori cu 121,25% şi 88,16% (19,12 mg/l la 3600 lx şi 20,74 mg/l - 4700 lx) mai mult ca în proba de referinţă. Cultivarea spirulinei la intenistatea de 4700 lx în prezenţa compusului Pk1 a prezentat valori cu 59,80% (17,60 mg/l epz sulfatate) mai înalte faţă de proba de referinţă. În cazul utilizării compusul coordinativ Pk-3 în concentraţia de 0,01 mmol/l şi cultivarea spirulinei la intensitatea 4700 lx, s-a înregistrat un conţinut de 21,49 mg/l de epz sulfatate, adică cu 90% mai mult ca în proba de referinţă. Este de menţionat faptul că concentraţia de 0,015 mmol/l a compuslui PK-3 s-a dovedit a fi toxică. În cazul cultivării spirulinei la 4700 lx, în prezenţa compusului Pk9 şi Pk11, s-a înregistrat un conţinut de epz sulfatate cu 70,58% şi respectiv cu 32,35% mai mult ca în proba martor.

Astfel, putem concluziona că compuşii coordinativi studiaţi ai Cu(II) suplimentaţi şi cultivarea spirulinei la intensitatea mai înaltă a luminii (4700 lx) favorizează sinteza înaltă de epz sulfatate. La utilizarea compuşilor coordinativi ai Cu(II) în concentraţie de 0,015 mmol/l la cultivarea spirulinei, conţinutul epz sulfatate creşte în ordine următoare: **PK11** [$C_{13}H_{23}CuNO_9$] < **PK9** [$C_{11}H_{18}CuN_2O_9$] < **PK1** [$C_{11}H_{16}ClCuNO_4$] < **PK3** [$C_{11}H_{19}BrClCuNO_6$] < **PK13** [$C_{12}H_{16}BrCuNO_4$].

ELABORAREA PREPARATULUI BACULOVIRAL VIRIN-HS-P PENTRU COMBATEREA *HELICOVERPA ARMIGERA* LA TOMATE

https://doi.org/10.52757/imb21.103

Zavtoni Pantelimon, Volosciuc Leonid
Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, Republica Moldova
e-mail: PantelimonZavtoni@rambler.ru

În ţările Europei occidentale şi SUA a fost iniţiată elaborarea şi implementarea unui sistem nou de agricultură, numită ecologică, fundamentul căreia constă în obţinerea de recolte înalte prin folosirea îngrăşămintelor organice, sporirea activităţii biologice şi fizico-chimice ale solului, fără aplicarea pesticidelor şi fertilizanţilor.

Studiul microorganismelor – virusurilor baculovirale entomopatogene necesită tehnici pentru izolarea suşelor din surse naturale și multiplicare acestora in laboratoare de cercetare amenajate special pe lângă instituțiile științifice. Aplicarea microorganismelor entomopatogene în agricultură – reduce esențial folosirea de produse chimice poluante, asigură menţinerea unei biodiversităţi cu o productivitate biologică ridicată.

Deosebit de abuziv se foloseau pesticidele în sere, livezi şi vii, unde în timpul a 10-15 tratamente se aplicau câte 30-50kg/ha. A accentuat în repetate rânduri că aplicarea intensivă a chimizării agriculturii condiţionează numeroase urmări grave. Paralel cu reducerea ravagiilor provocate de organismele dăunătoare, pesticidele condiţionează dereglări serioase în echilibru ecologic, reducând cu mult numărul şi rolul florei şi faunei utile. Aplicarea lor îndelungată duce la unele schimbări genetice la organismele dăunătoare, fapt ce condiţionează apariţia rezistenţei la pesticide (Voloşciuc, 2009).

Virusurile entomopatogene, mai ales din familia *Baculoviridae*, exclusive la nevertebrate, în special la insecte, se pot folosi cu succes la obţinerea preparatelor virale care provoacă epizootii, natural contribuind la reglarea densităţii populaţiilor acestora (Theilmann, Blissard, 2005).

Printre metodele microbiologice de protecţie a plantelor, care se folosesc în combaterea organismelor dăunătoare, un loc deosebit revine preparatelor baculovirale. Avantajele serioase ale agriculturii ecologice şi luând în consideraţie accentele strategiei generale a politicii agrare, e important ca una din căile primordiale a dezvoltării Republicii Moldova să devină obţinerea şi procesarea produselor ecologice.

La Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor a fost elaborat și testat în condiții de câmp preparatul microbiologic baculoviral Virin-HS-P pe loturile experimentale de cercetare.

Testarea insecticidului Virin-HS-P, s-a efectuat la tomate soiul „Rio Grand”, coacere mijlocie, conform recomandaţiei Centrului de Stat pentru Atestarea şi Omologarea Produselor de uz Fitosanitar şi a Fertilizanţilor din Republica Moldova.

Schema experienţei, variantele şi repetiţiile: cultivarea prin semințe, soiul „Rio Grand”. Schema de plantare – 0,3 x 0,7 m. Distanţa între variante – 1,0 m. Variante – 3: Varianta chimică – Actara 25 WG – 0,06 kg/ha; Varianta biologică – Virin-HS-P – 0,1 kg/ha; Varianta Martor – fără tratament. Experienţa a fost efectuată în 4 repetiţii a câte 50 m^2, randomizat.

Eficacitatea prelucrării o efectuam după criteriu, 100 plante analizate pe diagonală în fiecare variantă. În perioada de vegetaţie s-au efectuat două prelucrări cu stropitoarea de spate. Preparatul Virin-HS-P nu acţionează negativ la fiziologia dezvoltării culturii şi a formării fructelor la tomate.

Eficacitatea preparatului Virin-HS-P în controlul dezvoltării buhei fructificaţiilor, generaţia II, la tomate, soiul „Rio Grand”, a avut o eficacitate biologică esenţială de 78,1%, faţă de etalonul chimic Actara, care are o eficacitate biologică de 82,7%.

Preparatul Virin-HS-P a fost înregistrat în Registru de Stat pentru Atestarea şi Omologarea Produselor de uz Fitosanitar şi a Fertilizanţilor cu norma de consum 0,1 kg/ha în controlul dezvoltării buhei fructificaţiilor (*Helicoverpa armigera*) la tomate.

FUNGI AS POTENTIAL PRODUCERS OF CHOLESTEROL OXIDASES

https://doi.org/10.52757/imb21.104

Zhukouskaya L.A., Semashko T.V., Muntsianava M.V.
Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
e-mail: mila_zhu@mail.ru

The reports of World Health Organization point out cardiovascular diseases as the main cause of human mortality around the globe. Elevated levels of cholesterol and derived esters in plasma (hypercholesterinemia) are responsible for atherosclerotic pathological changes in blood vessels leading to cardiovascular malfunctions. On the contrary, low cholesterol levels (hypocholesterinemia) are likewise hazardous to health and may induce cancer, depression symptoms, respiratory problems. Taking into account the above-mentioned considerations, it is vital to control cholesterol levels at the early stages of the pathology. Owing to high sensitivity and specificity, the enzyme cholesterol oxidase is widely used to determine serum cholesterol concentrations.

Cholesterol oxidase (EC 1.1.3.6.) is a monomeric bifunctional flavin adenine dinucleotide (FAD)-dependent enzyme belonging to oxidoreductase family and catalyzing oxidation of 3β-hydroxysteroids and isomerization of intermediate cholest-5-en-3-one to cholest-4-en-3-one to yeld hydrogen peroxide. Cholesterol oxidase catalyzes the initial degradation of cholesterol and probably other natural sterols used as carbon sources for growth of various microorganisms.

Analysis of literature data illustrating cholesterol-generating ability showed that this property is inherent to bacterial strains affiliated to genera *Arthrobacter, Burkholderia, Chromobacterium, Mycobacterium, Pseudomonas, Rhodococcus, Streptomyces*. Only few reports are available on synthesis of cholesterol oxidase by filamentous fungi. Aiming to fill the gap, screening for cholesterol oxidase production was carried out among representatives of fungal cultures, namely strains referred to genera *Aspergillus* and *Penicillium*.

The studies resulted in detailed consideration of 13 fungal strains representing genus *Aspergillus* and 30 strains from genus *Penicillium* deposited in collection of laboratory of enzymes and Belarusian collection non-pathogenic microorganisms, Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus. In the course of experiments the above-selected strains were cultured on bilayer differentiating diagnostic agar medium containing o-dianisidine, peroxidase and cholesterol. Microbial ability to synthetize cholesterol oxidase was estimated via brown pigmentation zones around growing colonies. Based on color intensity and diameter of pigmentation zones, 8 strains producing the largest agar staining areas (7-10 mm) were sorted out: 3 variants from species *Aspergillus alliaceus* and the sole representatives of *Aspergillus niger, Penicillium canescens, Penicillium chrysogenum, Penicillium kapuscinskii, Penicillium roquefortii*.

Eight most active cultures were further tested for the capacity to synthesize cholesterol oxidase enzyme in submerged culture. Culture growing was carried out in Erlenmeyer flasks on the shaker during 96 h. Upon termination of the process microbial biomass was collected by passing through nylon filter and the remaining filtrate was analyzed. Extracellular cholesterol oxidase activity was assayed spectrophotometrically by the method based on enzymatic conversion of cholesterol into 4-cholesten-3-one. The amount of enzyme sufficient to catalyze transformation of 1 mmol of cholesterol into cholestenone during 1 min at 30°C was assumed as one unit of cholesterol oxidase activity. The measurements were performed at 500 nm.

It was found that the maximum extracellular cholesterol oxidase biosynthetic capacity was shared by fungi *A. alliaceus, P. chrysogenum, P. canescens* – one strain from each species. These strains were distinguished by enhanced enzyme generation potential exceeding 10-20 times that of the other tested cultures.

Summing up, the ability of filamentous fungi to produce extracellular cholesterol oxidases was demonstrated and the best 3 strains were selected for further studies on optimization of cultural conditions and genetic engineering investigations.

ENZYMATIC SYNTHESIS OF 6-THIO-2′-DEOXYGUANOSINE AND ITS PHOSPHATIDYL DERIVATIVE

https://doi.org/10.52757/imb21.105

Vinter Marharyta, Bulatovski Alexey, Birichevskaya Larisa, Zinchenko Anatoli
Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk-220141, Belarus
e-mail: rita_vinter_abc@mail.ru

The pharmaceutical agents based on modified nucleosides and nucleotides make up a vital group of therapeutic chemicals for treatment of a series of grave viral and tumor diseases. Unfortunately, most compounds appropriate for treatment of cancer pathologies possess undesirable effects – relatively low therapeutic index, pronounced toxic action, rapid catabolism in blood circulation system down to inactive products. One of the strategies to solve this problem is elaboration of a novel generation of pharmaceuticals («prodrugs») based on nucleoside conjugates with lipids.

Nucleoside 6TdG is one of the novel promising compounds showing elevated antitumor activity. This study proposes biocatalytic method of producing 6TdG and its phospholipid derivative – 5′-dimiristoylphosphatidyl-6-thio-2′-deoxyguanosine (DMP-6TdG) using enzymes of microbial origin.

Recombinant purine nucleoside phosphatases and thymidine phosphorylases of *Escherichia coli* isolated from strains earlier engineered by the authors [1] were engaged in "one bottle" approach for enzymatic synthesis of 6TdG from 6-thioguanine and natural nucleoside 2′-deoxythimidine. During the process at least 80-90% of modified base substrate is converted to the purpose nucleoside. After a subsequent purification the final yield constituted 58 mol% per 6-thioguanine amount initially supplied into the medium. The structure of the resulting compound was confirmed by data of UV-, NMR-spectroscopy and mass spectrometry. In comparison with chemical analogues the developed enzymatic method of manufacturing antitumor 6TdG nucleoside substance is distinguished by simple procedure, ecological safety and the increased yield of the target product.

Phospholipid derivative DMP-6TdG was produced in the course of transphosphatidylation reaction catalyzed by the enzyme phospholipase D recovered from cultural liquid of *Streptomyces netropsis*. Synthetic phospholipid 1,2-dimiristoylphosphatidylcholin served as the source of phosphatidyl groups. Conversion of 6TdG nucleoside into phosphatidyl nucleoside in the reaction process reached 65 mol%. The target compound DMP-6TdG was isolated by column chromatography on silica gel. The final yield equaled 46 mol% per nucleoside amount fed into reaction mixture. Summing up, the authors demonstrated the first successful production of novel, previously not described compound – DMP-6TdG presumably acting as prodrug – the protoform of nucleoside showing promising antitumor therapeutic potential.

References:

1. Application of recombinant enzymes for the synthesis of pharmaceutically valuable nucleosides and nucleotides / D. V. Burko [et al.] // Biotechnology in Medicine, Foodstuffs, Biocatalysis, Environment and Biogeotechnology. – New York: Nova Science Publ., 2010. – P. 1–13.

Indice de nume / Name index

Aleschenkova Z. M. *69, 75*
Aliashkevich I. *128*
Ananeva I. N. *69*
Ananyeva I. N. *75*
Andronache L. *76*
Apostol M. *64, 82, 89*
Artiomov L. *39*
Asiminicesei D. M. *89, 96*
Baciu A. *71*
Bacu Gh. *40*
Badeanu M. *54*
Balacci S. *40, 83*
Balan (Batîr) L. *91, 93, 129*
Balan I. *40, 55, 77, 83*
Beşliu A. *116, 130, 137, 159*
Biliavska L.O. *143*
Birichevskaya L. *163*
Birsa M. *41, 104, 131, 134*
Bivol C. *138*
Blîndu I. *40, 83*
Bogdan N. *62*
Bogdan V. *132*
Boiştean A. *42, 43*
Bolocan N. *44*
Bradu N. *116*
Bulatovski A. *133, 163*
Burţeva S. *41, 104, 131, 134, 136*
Buzan V. *40, 83*
Capcanari T. *43*
Caraman M. *135, 136*
Carapirea A. *100*
Cazacov I. *40, 83*
Cebotari A. *71*
Cebotari V. *41*
Ceclu L. *45*
Cepoi A. *86*
Cepoi L. *31, 46, 47, 56, 85, 86*
Chihai O. *48, 49*
Chiriac T. *31, 46, 50, 85, 86*
Chirsanova A. *43*
Chiseliţa N. *116, 130, 137, 159*
Chiselita O. *104, 111, 116, 130, 131, 134, 137, 147, 159*
Chyrykava M. *65, 88, 128*
Cibotaru E. *111*
Ciloci A. *138, 139*
Clapco S. *138, 139*
Codreanu L. *47, 50, 51*
Cojocaru C. *52*
Comăniţă E.D. *96*
Corcimaru S. *16, 21, 80*
Coşcodan M. *53*
Cotoman A. *25, 79, 81*
Covaci E. *52, 63, 66*
Cozma P. *64, 72, 82, 96*
Cremeneac L. *135, 136*
Creţu R. *40, 83*
Crucean Ş. *140, 158*
Daniliş M. *130, 137, 159*
Daraban M. G. *54*
Darie G. *116*
Darie V. *44*
Demcenco B. *55, 77*
Diaconu M. *72*
Didoruc S. *150*
Djenjera I. *111, 116*
Djur S. *47, 50, 56, 86*
Doni V. *47, 50*
Dudnicenco T. *57, 58*
Dumbraveanu V. *47, 50, 86*
Dvornina E.. *138, 139*
Efremova N. *130, 137, 159*
Efteniuc I. *135, 136*
Elenciuc D. *47*
Fanari I. *148*
Favier L. *64*
Fedaş V. *71*
Filote C. *59, 64, 82*
Fiodorov N. *83*
Frunze N. *39, 44, 60, 61*
Gamaniuc M. *76*
Gavrilescu M. *64, 72, 82, 89, 96*
Golubi R. *62*
Gorban V. *155*
Gorincioi V. *90*
Gramovici A. *55, 77*
Gudumac V. *76, 87, 149*
Gulea A. *87*
Guţu C. *63*
Guţul T. *21*
Hagiu Zaleschi L. *89*
Hlihor R. M. *59, 64, 82, 89, 96*
Hlushen A. *65, 88, 128, 153*
Hubchyk K. *65*
Iatco I. *50*
Ipiroti N. *66*
Josan V. *25, 67, 79, 81*
Jurminskaia O. *68*
Klishevich N. G. *69*
Korsakova E. S. *97*
Kuchura A. *153*
Kulish S. *141*
Kurnushko A. *73*
Labliiuc S. *138, 139*
Liaudanskaya A. I. *142*
Loboda M.I. *143*
Lozan A. *130, 137, 159*
Lungu A. *70, 144, 145*
Lupascu L. *146, 147*
Lupascu T. *146, 147*

Macari V. *148, 149, 150*
Mamaliga V. *25, 79, 81*
Maşcenco N. *104, 134*
Maţencu D. *150*
Matvienco N. *111*
Maximova N. P. *142*
Melnic M. *70*
Mereniuc L. *16*
Mereuţă I. *71*
Minuţ M. *72, 96*
Molchan O. *73*
Moldovan A. *151*
Moldovan C. *74, 90, 91, 92*
Moroz I. *152*
Moscalic R. *135, 136*
Munteanu - Molotievskiy N. *151*
Muntsianava M.V. *162*
Narkevich D. *153*
Naumovich N. I. *75*
Nedelcu A. *45*
Negru M. *68*
Osadci N. *55, 77*
Osipciuc G. *40*
Pantea V. *76, 87, 149*
Pavlicenco N. *148*
Pavlyuk A. *152*
Petcu I. *55, 77*
Petuhov O. *147*
Pistol Gh. *148, 149, 154*
Plingau E. *78*
Plotnikova E. G. *97*
Podborskaya L. *73*
Popuşoi C. *87*
Postolachi O. *25, 67, 79, 81*
Prisacari S. *21, 80*
Prusakova A. *141*
Putin V. *148, 149*
Rastimesina I. *25, 67, 73,79,81*
Rosca F. *55, 77*
Roşca M. *59, 64, 72, 82*
Roşca-Sadurschi L. *45*
Rotari A. *150*
Rotari D. *116*
Rotari I. *84, 85, 86*
Rotari L. *148, 149*
Rotari M. *85*
Rotaru A. *148, 149*
Rudi L. *31, 46, 85, 86*
Rudic V. *31, 46, 56, 85, 131*
Rusu Ş. *70*
Safronava H. V. *75*
Sapunova L. *141, 152, 155*
Sardari V. *76, 87*
Savca D. *111*
Şcerbacova T. *145, 158*
Semashko T.V. *156, 162*
Shavela Y. *88*
Siminiuc R. *43*
Simion I. M. *59, 64, 82, 89*
Sîrbu T. *90, 91, 92*
Sîtnic F. *16*
Slanina V. *70, 91, 93, 129,146,147*
Stancu M. M. *94*
Stingaci A. *157*
Şubernețkii I. *68*
Suteu D. *54*
Tamkovich I. *141*
Taşcă I. *47, 56, 85,95*
Tasca V. *86*
Timbaliuc N. *146*
Timuş I. *90, 122*
Tiurina J. *138, 139*
Toderaş I. *151*
Todiraş V. *21, 70, 80*
Tofan E. *130, 137, 159*
Tomşa A. *71*
Tonu N. *44*
Ţurcan O. *90, 91, 92, 160*
Ustsinovich S.E. *156*
Valuta A. *46, 85, 86*
Vasilachi I. C. *96*
Verameyenka K. G. *142*
Vinter M. *163*
Volosciuc L. *157, 161*
Vrabie V. *132*
Yarkhova L. *155*
Yastrebova O. V. *97*
Zaharia C. *54*
Zavtoni P. *161*
Zhukouskaya L.A. *156, 162*
Zinchenko A. *133, 163*
Zinicovscaia I. *98*