



MD 3487 F1 2008.01.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **3487** ⁽¹³⁾ **F1**
(51) Int. Cl.: *C12N 1/14* (2006.01)
C12R 1/80 (2006.01)
A62D 3/02 (2007.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

| | |
|---|--|
| Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată în termen de 6 luni de la data publicării | |
| (21) Nr. depozit: a 2007 0198 (22) Data depozit: 2007.07.11 | (45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2008.01.31, BOPI nr. 1/2008 |
| (71) Solicitant: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD | |
| (72) Inventatori: CINCILEI Angela, MD; DELORT Anne-Marie, FR; TOLOCICHINA Svetlana, MD; SIREȚANU Ludmila, MD; BESSE-HOGGAN Pascale, FR; SANCELME Martine, FR | |
| (73) Titular: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD | |

(54) Tulpină de fungi *Penicillium verrucosum* Dierckx var. *cyclopium* -
destructoare a metalaxilului și benzotiazolilor

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la microbiologie, și anume la
o tulpină de fungi, care poate fi utilizată pentru
descompunerea substanțelor xenobiotice ce
poluează mediul înconjurător.

Tulpina de fungi *Penicillium verrucosum*
Dierckx var. *cyclopium*, depozitată în Colecția
Națională de Microorganisme a Institutului de
Microbiologie al Academiei de Științe a Republicii

5

10

2
Moldova cu numărul CNM-FP-02, posedă proprie-
tatea de a descompune concomitent metalaxilul,
benzotiazolul și 2-hidroxibenzotiazolul.

Revendicări: 1

MD 3487 F1 2008.01.31

Descriere:

Invenția se referă la microbiologie, și anume la o tulpină de fungi, care poate fi utilizată pentru descompunerea substanțelor xenobiotice ce poluează mediul înconjurător.

Sunt cunoscute tulpini de microorganisme, care posedă capacitatea de a descompune metalaxilul (grupa acilalaninelor), benzotiazolul și 2-hidroxibenzotiazolul (grupa benzotiazolilor) [1, 2, 3].

Dezavantajele acestor tulpini constau în incapacitatea lor de a degrada compuși chimici din ambele grupe: acilalanine și benzotiazoli.

Se mai cunoaște tulpina *Aspergillus alliaceus* CNM-FA-01 – distructoare a xenobioticelor de grupe chimice diverse: clorsulfuron, fluazifop-butil, galoxifop-etoxietil, diclofop-metil și sclareol [4].

Dezavantajul acestei tulpini constă în incapacitatea ei de a descompune benzotiazolul și 2-hidroxibenzotiazolul, precum și în descompunerea inefficientă a metalaxilului.

Problema, pe care o rezolvă prezenta invenție constă în selectarea unei noi tulpini de fungi, care să posedă proprietatea de descompunere concomitentă a metalaxilului (grupa acilalaninelor) și benzotiazolului, 2-hidroxibenzotiazolului (grupa benzotiazolilor).

Esența invenției constă în aceea că se propune tulpina de fungi *Penicillium verrucosum* Dierckx var. cyclopium CNM-FP-02 - distructoare a metalaxilului și benzotiazolilor.

Tulpina de fungi *Penicillium verrucosum* Dierckx var. cyclopium, depozitată în Colecția Națională de Microorganisme a Institutului de Microbiologie al Academiei de Științe Moldovei cu numărul CNM-FP-02, posedă proprietatea de a descompune concomitent metalaxilul, benzotiazolul și 2-hidroxibenzotiazolul.

Rezultatul invenției constă în obținerea tulpinii de fungi *Penicillium verrucosum* Dierckx var. cyclopium CNM-FP-02, care asigură descompunerea concomitentă a metalaxilului (grupa acilalaninelor), benzotiazolului și 2-hidroxibenzotiazolului (grupa benzotiazolilor).

Tulpina propusă a fost izolată în cultură pură din sol cernoziomic carbonatat, recoltat de pe parcele din zona centrală a Republicii Moldova, prelucrate în repetate rânduri cu pesticide.

Caracteristica cultural-morfologică a tulpinii.

În decurs de 10...12 zile, pe mediul aragizat Czapek cultura formează colonii, alcătuit de împieticire compactă de hife, cu nuanțe galbenă-verzuie și verde, vârsta cafenie-pală cu un limb de creștere verzuie. Exsudația neînsemnată. Mirosul slab. Partea inversă a coloniei este incoloră sau de nuanță cenușie-verde, cu vârsta cafenie-pală. Conidioforii netezi au o lungime de 75...100 x 2,2 x 3,0 ?m. Penele sunt tipice biverticilate, simetrice, de obicei scurte și extinse, compuse dintr-un mănunchi din 5...9 metule a câte 7...8 x 3,0...3,5 ?m. Fialidele câte 5...7 în verticil, 8...10 x 2,2 x 2,8 ?m, conidii sferice, 2,8...3,8 ?m, ghimpoase, cu vârsta verde-închise, formând lanțuri de circa 30 ?m și mai mult.

Caracteristicile fiziologice și biochimice ale tulpinii.

Tulpina crește bine pe mediile obișnuite, inclusiv pe cele minerale. Tipul catabolismului – respirație aerobă, temperatura optimă este de 28°C, pH-ul mediului 5,5...5,7.

Exemplu de realizare a invenției

Tulpinile *Penicillium verrucosum* Dierckx var. cyclopium CNM-FP-02 și *Aspergillus alliaceus* CNM-FA-01 se cultivă în eprubete pe bragă agarizată timp de 7 zile. Culturile mature se inoculează în baloane conice cu volumul de 250 ml pe mediul E-8. Compoziția mediului E-8, g/L: (NH₄)₂ HPO₄ 1,5; KH₂PO₄ 0,7; MgSO₄ x 7H₂O 0,8; NaCl 0,5; apă distilată – până la 1 L; pH-ul inițial 5,5...5,7. Concentrația substanței active a xenobioticelor, care asigură creșterea culturilor, constituie 50 mg/L pentru benzotiazol și 100 mg/L pentru metalaxil și 2-hidroxibenzotiazol. Cultivarea are loc pe un agitator (180 rot./min) la 28°C. Peste 14 zile sunt determinate cantitățile remanente de metalaxil prin metoda de calcul analitic la cromatografierea în strat subțire; de benzotiazol și 2-hidroxibenzotiazol prin metoda HPLC. Drept martor servește compusul organic respectiv în mediul steril E-8.

Rezultatele cercetărilor, exemplificate în tabel, atestă că tulpina *Aspergillus alliaceus* CNM-FA-01 are o capacitate redusă de descompunere a metalaxilului, benzotiazolului și 2-hidroxibenzotiazolului.

Astfel, tulpina de fungi microscopici *Penicillium verrucosum* Dierckx var. cyclopium CNM-FP-02 descompune 60,0% de metalaxil în 14 zile cu formarea a trei metaboliți, care pe parcursul a 10...60 zile se descompun în medii naturale. Distrucția benzotiazolului, 2-hidroxibenzotiazolului constituie 63,0 și, respectiv, 53,0% și decurge cu formarea a 1...2 metaboliți.

55

MD 3487 F1 2008.01.31

4

Conținutul xenobioticelor la cultivarea în prezența fungilor microscopici, % din masa introdusă

| Varianta | Cantitatea xenobioticelor peste 14 zile, % | | | | | |
|---|--|------------------------|--------------------|------------------------|----------------------|------------------------|
| | Metalaxil | | Benzotiazol | | 2-hidroxibenzotiazol | |
| | % de descom-punere | numărul de meta-boliți | % de descom-punere | numărul de meta-boliți | % de descom-punere | numărul de meta-boliți |
| Martor (mediu steril) | 0 | - | 0 | - | 0 | - |
| Mediu steril + <i>Aspergillus alliaceus</i> CNM-FA-01 (soluția cea mai apropiată) | 12,0 | 1 | 0 | - | 0 | - |
| Mediu steril + <i>Penicillium verrucosum</i> (invenția propusă) | 60,0 | 3 | 63,0 | 2 | 53,0 | 1 |

5 Tulpina de fungi microscopici *Penicillium verrucosum* Dierckx var. cyclopium CNM-FP-02 descompune activ xenobiotocel metalaxil, benzotiazol, 2-hidroxibenzotiazol și poate fi valorificată pentru protecția mediului înconjurător de poluarea cu acești compuși sintetici.

10

(57) Revendicare:

Tulpină de fungi *Penicillium verrucosum* Dierckx var. cyclopium CNM-FP-02 - distructoare a metalaxilului și benzotiazolilor.

15

(56) Referințe bibliografice:

1. Gaja M.A., Knapp J.S. The microbial degradation of benzotiazoles. Journal of Applied Microbiology, 1997, v. 83, p. 327-334
2. Malouki M., Giry G., Besse P., Combourieu B., Sancelme M., Bonnemoy F., Richard C., Delort A.M. Sequential bio- and photo-transformation of the herbicide Methabenzthiazuron in water. Environ. Toxicol. Chem., 2003, v. 22, p. 2013-2019
3. Bailey A., Coffey M. Characterization of microorganisms involved in accelerated biodegradation of metalaxil and metalachlor in soils. Can. J. Microbiolog., 1986, v. 32, p. 562-569
4. MD 2364 G2 2004.01.31

Șef Secție:

COLESNIC Inesa

Examinator:

GORDIENCO Maria

Redactor:

LOZOVANU Maria