



MD 4594 C1 2019.04.30

## REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4594** (13) **C1**  
(51) Int.Cl: *C12N 1/20* (2006.01)

### (12) BREVET DE INVENȚIE

|  |  |
|--|--|
| (21) Nr. depozit: a 2018 0008<br>(22) Data depozit: 2018.02.16   | (45) Data publicării hotărârii de<br>acordare a brevetului:<br>2018.09.30, BOPI nr. 9/2018 |
| (71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD<br>(72) Inventatori: ȘALARU Victor, MD; DOBROJAN Sergiu, MD; STRATULAT Irina, MD;<br>DOBROJAN Galina, MD<br>(73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD |  |

(54) Tulpină de cianobacterie *Anabaena constricta* (Szafer) Geitler CNMN-CB-20  
- sursă de glucide

(57) Rezumat:

Invenția se referă la biotehnologie și poate fi utilizată în industria farmaceutică, zootehnie, fitotehnie etc.

Tulpina de cianobacterie *Anabaena constricta* (Szafer) Geitler CNMN-CB-20 este

depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neputogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM și poate fi utilizată în calitate de sursă de glucide.

Revendicări: 1

MD 4594 C1 2019.04.30

**(54) Strain of cyanobacterium *Anabaena constricta* (Szafer) Geitler CNMN-CB-20  
- source of carbohydrates**

**(57) Abstract:**

1

The invention relates to biotechnology and can be used in the pharmaceutical industry, zootechnics, phytotechnics, etc.

The strain of cyanobacterium *Anabaena constricta* (Szafer) Geitler CNMN-CB-20 is deposited in the National Collection of

2

Nonpathogenic Microorganisms of the Institute of Microbiology and Biotechnology of the ASM and can be used as a source of carbohydrates.

Claims: 1

**(54) Штамм цианобактерии *Anabaena constricta* (Szafer) Geitler CNMN-CB-20  
- источник углеводов**

**(57) Реферат:**

1

Изобретение относится к биотехнологии и может быть использовано в фармацевтической промышленности, зоотехнии, фитотехнии и т. д.

Штамм цианобактерии *Anabaena constricta* (Szafer) Geitler CNMN-CB-20

2

депонирован в Национальной Коллекции Непатогенных Микроорганизмов Института Микробиологии и Биотехнологии АНМ и может быть использован в качестве источника углеводов.

П. формулы: 1

**Descriere:**

Invenția se referă la biotehnologie și poate fi utilizată în industria farmaceutică, zootehnie, fitotehnie etc.

5 Glucidele din biomasa algală sunt importante pentru organismele animale, în special pentru cel al omului și cele vegetale servind ca sursă de energie și de structură în celulele lor. Administrarea glucidelor din biomasa algală la organismele animale contribuie la menținerea temperaturii corpului și întreținerea funcțiilor vitale, funcționarea eficientă a sistemului nervos, creierului, inimii, plămânilor, rinichilor, intestinului și celulelor sanguine. Glucidele algale pot fi utilizate și ca  
10 sursă pentru menținerea funcțiilor membranei celulare, a țesutului coajiv, a țesutului nervos precum, influențând pozitiv și asupra hormonilor, enzimelor și anticorpilor.

15 Este cunoscut faptul că tulpina de cianobacterie *Anabaena ambigua* poate fi utilizată în calitate de sursă de glucide [1].

Dezavantajul tulpinii cunoscute este că aceasta posedă o cantitate insuficientă de glucide de 16...21,8%.

Cea mai apropiată după esența tehnică și rezultatul obținut este tulpina *Anabaena variabilis*, care conține în biomasă 25,6% glucide [2].

20 Dezavantajul acestei tulpini constă în conținutul insuficient de glucide în biomasă.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în obținerea unei tulpini noi de cianobacterie, care ar asigura un conținut sporit de glucide în biomasă.

25 Esența invenției constă în aceea că se propune o tulpină nouă de cianobacterie *Anabaena constricta* (Szafer) Geitler, depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al Academiei de Științe a Moldovei cu numărul CNMN-CB-20, ca sursă de glucide.

30 Rezultatul tehnic al invenției constă în faptul că biomasa tulpinii propuse de *Anabaena constricta* (Szafer) Geitler are un conținut sporit de glucide de 57,33%, față de cea mai apropiată soluție *Anabaena variabilis*, care conține în biomasă doar 25,6% glucide.

Rezultatul tehnic obținut se datorează particularităților biochimice ale tulpinii, în special sinteza majoră a glucidelor, fapt ce demonstrează particularitatea cianobacteriilor de a sintetiza în biomasă substanțe chimice valoroase.

35 Exemplu de realizare a invenției

Tulpina propusă - *Anabaena constricta* (Szafer) Geitler a fost izolată din mostrele de sol, colectate din serele întreprinderii SRL „Fruct Agro Com” situate în s. Bardar, r. Ialoveni, Republica Moldova, la aplicarea metodei de obținere a monoculturilor din culturi brute dense pe medii nutritive lichide și solide.

40 Pentru a cultiva tulpina de cianobacterie *Anabaena constricta* (Szafer) Geitler este necesar de a respecta următoarele condiții: temperatura 15...30°C, iluminarea la inocularea tulpinii de minim 500 lx, în faza exponențială de creștere 5000 lx. Tulpina de cianobacterie poate fi cultivată fără a fi agitată pe perioada de cultivare.

45 Mediul nutritiv lichid utilizat pentru cultivarea tulpinii de cianobacterie este mediul BG-11, care se prepară prin adăugarea în apă distilată a reagenților indicați în tab. 1, în ordinea stabilită.

Tabelul 1

Mediul BG-11 pentru cultivarea tulpinii de cianobacterie *Anabaena constricta* (Szafer) Geitler CNMN-CB-20

| Ingredientul   | Cantitatea, g/L |
|--|-----------------|
| NaNO <sub>3</sub>  | 1,500           |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>                                      | 0,040           |
| MgSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O                                | 0,075           |
| CaCl <sub>2</sub> x 2H <sub>2</sub> O                                | 0,036           |
| C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>                         | 0,006           |
| C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> x Fe x H <sub>3</sub> N | 0,006           |
| EDTANa <sub>3</sub> Mg   | 0,001           |

|   |       |
|---|-------|
| Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>                       | 0,020 |
| Soluție de microelemente                              | 1 ml  |
| pH (după sterilizare se ajustează cu 1M NaOH sau HCl) | 7,1   |

Tabelul 2

Soluția de microelemente pentru mediul BG-11

| Ingredientul   | Concentrația, g/L |
|--|-------------------|
| H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>                         | 2,860             |
| MnCl <sub>2</sub> x 4H <sub>2</sub> O                  | 1,810             |
| ZnSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O                  | 0,220             |
| NaMoO <sub>4</sub> x 2H <sub>2</sub> O                 | 0,390             |
| CuSO <sub>4</sub> x 5H <sub>2</sub> O                  | 0,079             |
| Co (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> x 6H <sub>2</sub> O | 0,0494            |

- 5 Pentru prepararea mediului nutritiv solid in mediul nutritiv lichid BG-11 (vezi tab. 2) se adaugă agarul în doză de 15 g/L, după care mediul se încălzește până la fierbere pentru dizolvarea agarului și se lasă să fiarbă timp de 5 min.
- Tulpina de cianobacterie se caracterizează prin capacitatea de sinteză sporită a glucidelor, cantitatea cărora este de 57,33%.
- 10 Caracterile morfologo-culturale ale tulpinii de cianobacterie: reprezintă trihomi singulari de culoare albastru-verde, mai mult sau mai puțin drepti sau puțin curbați, lipsiți de teaca mucilaginoasă, 4,0...7,5 μ lățime, cu mișcări caracteristice oscilatorii. Rareori formează colonii microscopice de tip turf. Celulele vegetative sunt de formă cilindrică, la mijloc mai mult sau mai puțin strangulate de 6,0...10,0 μ lungime, cu o cromoplasmă neînchisă (necontrolată), datorită acestui fapt o bandă de lumină îngustă trece de-a lungul conținutului trihomului. Filamentele tinere sunt formate de obicei din cate 4...5 celule, cele adulte atingând până la 1560 μ lungime. În cultură uneori formează teacă mucilaginoasă. Heterocistele sunt sferice, intercalare, aproximativ 5,0...10,0 μ în diametru. Tulpina de cianobacterie formează exospori. Sporii se formează din celulele vegetative ale tulpinii și sunt mai mari decât acestea și după formă la fel se deosebesc de celulele vegetative. Sporii au formă rotunjită cu diametrul cuprins între 7,5...10,0 μ.
- 15 La inocularea tulpinii de cianobacterie pe mediu nutritiv lichid se formează inițial mai multe colonii sferice care se depun la fundul vasului, după ce acestea cresc, se îndreaptă și se poziționează la suprafața mediului nutritiv.
- 25 Caracterile fiziologo-biochimice ale tulpinii de cianobacterie: substanțele biologice active ce fac parte din componența tulpinii date sunt: proteine 17,80%, lipide 2,00...5,00%, glucide 57,33%.
- Produl sintetizat de tulpină: proteine în cantitate de 17,80%, lipide 2,00...5,00%, glucide 57,33%.
- 30 Parametrii productivi ai tulpinii: se inoculează 0,4 g/L biomasă vie sau biomasă absolut uscată. La cultivarea tulpinii de cianobacterie în condiții optime de temperatură și iluminare, biomasa cianobacteriei se majorează de 4...9 ori până la finalul fazei exponențiale de creștere.
- 35 Metoda de determinare a activității tulpinii de cianobacterie: microscopia directă a tulpinii.
- Condițiile și componența mediilor pentru păstrarea îndelungată a tulpinii de cianobacterie. Condițiile de păstrare a tulpinii de cianobacterie sunt: temperatura camerei, iluminarea de 300...500 lx, însămânțarea fiind efectuată odată la 6 luni.
- 40 Mediu nutritiv pentru păstrarea tulpinii de cianobacterie: mediul solid Drew cu următoarea componență chimică: K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0,2 g/L; MgSO<sub>4</sub> ? 7H<sub>2</sub>O - 0,2 g/L; CaCl<sub>2</sub> ? 2H<sub>2</sub>O - urme; FeCl<sub>3</sub> - urme.
- Tulpina de cianobacterie *Anabaena constricta* (Szafer) Geitler se păstrează în eprubete înclinate ce conțin mediul nutritiv menționat, cu respectarea condițiilor de păstrare, însămânțarea fiind efectuată o dată la 6 luni. Tulpina de cianobacterie mai poate fi menținută pe mediul nutritiv menționat și în vase Petri, în aceleași condiții de păstrare, însămânțarea fiind efectuată o dată la 15...20 zile. Tulpina de
- 45

cianobacterie *Anabaena constricta* (Szafer) Geitler poate fi păstrată și pe mediul nutritiv Drew lichid la temperatura camerei cu inocularea repetată peste o perioadă de 4 luni.

**(56) Referințe bibliografice citate în descriere:**

1. Venkataramana Reddy M. B., Lakshamana Rao S. S. and Rao C. S. Preliminary study of different medias and various process parameters on the growth of blue-green algae (*Anabaena ambigua*). International Journal of Pharma and Bio Sciences, nr. 4 (3), 2013, p. 140-148
2. Барашков Г. К. Сравнительная биохимия водорослей. Москва, Пищевая промышленность, 1972, p. 8-9

**(57) Revendicări:**

Tulpină de cianobacterie *Anabaena constricta* (Szafer) Geitler CNMN-CB-20 - sursă de glucide.