



MD 2364 F1 2004.01.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) **2364** ⁽¹³⁾ **F1**
(51) **Int. Cl.**⁷: C 12 N 1/14;
C 12 R 1:66

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată în termen de 6 luni de la data publicării	
<p>(21) Nr. depozit: a 2003 0092 (22) Data depozit: 2003.03.31</p>	<p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2004.01.31, BOPI nr. 1/2004</p>
<p>(71) Solicitant: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD</p> <p>(72) Inventatori: CINCILEI Angela, MD; TOLOCICHINA Svetlana, MD; DVORNIKOVA Tatiana, MD</p> <p>(73) Titular: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD</p>	

(54) **Tulpină de fungi microscopici *Aspergillus alliaceus* destructoare de xenobiotice**

(57) **Rezumat:**

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

Tulpina de fungi microscopici *Aspergillus alliaceus* CNM-FA-01 destructoare de xenobiotice este depozitată în Colecția Națională de Microorganisme la Institutul de Microbiologie al Academiei de Științe a Republicii Moldova.

2
Tulpina posedă capacitatea de a descompune xenobiotice de natură chimică diferită.
Revendicări: 1

MD 2364 F1 2004.01.31

5

10

MD 2364 F1 2004.01.31

3

Descriere:

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

5 Pornind de la necesitatea detoxicării maxime și a mineralizării xenobioticelelor în mediul înconjurător, este actuală elaborarea metodelor de testare și clasificare a gradului biodegradabilității xenobioticelelor, precum și evaluarea potențialului biodegradant al microorganismelor. În acest context, este deosebit de importantă selectarea tulpinilor locale de microorganisme destructoare, ce au capacitatea de a descompune concomitent compuși sintetici de natură chimică diferită, folosiți amplu în economia națională a Moldovei.

10 Sunt cunoscute tulpini de microorganisme de sol, care posedă capacitatea de a descompune compuși chimici ai unui anumit (unui singur) grup chimic [1, 2, 3, 4].

Se mai cunoaște tulpina *Penicillium funiculosum* CNM-FP-01 – destructoare a pesticidului fluazifop-butil [5].

15 Însă un neajuns al tulpinilor microbiene cunoscute este incapacitatea lor de a degrada eficient compuși chimici de grupuri chimice diferite.

Problema pe care o rezolvă invenția dată constituie selectarea tulpinii microbiene, ce posedă capacitatea de a descompune concomitent xenobiotice de natură chimică diferită, precum clorsulfuronul (grupul sulfonilureelor); fluazifop-butilul, galoxifop-etoxietilul, diclofop-metilul (grupul acidului ariloxifenoxipropionic), sclareolul (grupul diterpenoizilor).

20 Esența invenției constă în faptul că în calitate de destructor al xenobioticelelor de grupuri chimice diverse este propusă tulpina locală *Aspergillus alliaceus* CNM-FA-01, izolată din sol cernoziomic carbonatat, recoltat de pe parcele din zona centrală a Republicii Moldova, prelucrate în repetate rânduri cu pesticide. Concentrația compusului sintetic, ce asigură creșterea culturii, este de 50 mg/L. Această cantitate de substanță dispăre din mediu timp de o lună. Rezultatul invenției constă în faptul că tulpina propusă

25 *Aspergillus alliaceus* CNM-FA-01 utilizează compuși sintetici clorsulfuron, fluazifop-butil, galoxifop-etoxietil, diclofop-metil, sclareol în calitate de sursă unică de carbon și/sau azot și energie.

Tulpina *Aspergillus alliaceus* CNM-FA-01 a fost depozitată în Colecția Națională de Microorganisme a Institutului de Microbiologie al Academiei de Științe a Republicii Moldova.

30 **Caracterile culturale-morfologice:** pe agar Czapek coloniile cresc ușor, atingând în 10 zile circa 6...7 cm în diametru. Se formează o structură fibrilară densă, cu riduri, ce constă din hife de culoare albă cu grosimea de 1 mm; miceliu aerian pufos, partea inversă a coloniei de culoare galben deschisă, intrasparentă; exudație intensă, deschisă, se acumulează în picături pe scleroți. Mirosul specific lipsește; scleroții se formează abundent pe întreaga suprafață, sunt de culoare cenușiu-argintie până la neagră; conidioforii verticali, cu pereți netezi, de culoare galben deschisă, 1...2 mm lungime. Fialidele sunt repartizate radial, cu timpul formând coloane oranj-gălbui până la cafenii, 100...1000 μm în diametru. Sterigme compacte, alcătuit din două rânduri: cele primare (7,0...13,0) x (3,5...5,0) μm poartă fiecare 6...8 sterigme secundare cu dimensiunile (8,0...10,0) x (1,5...2,0) μm. Conidii ovale sau sferice, netede, galbene, de mărimea (2,5...4,0) x (2,0...3,5) μm.

35 **Caracterile fiziologice și biochimice ale tulpinii:** crește bine pe mediile obișnuite, inclusiv pe cele minerale. Tipul catabolismului – respirație, aerob, temperatura optimă 27...28°C, pH-ul mediului 5,5...5,6. Această specie se întâlnește rar în natură, poate fi izolată din resturi vegetale degradate și solurile regiunilor sudice.

40 **Exemplu.** Tulpinile *Aspergillus sp.47*, *Aspergillus alliaceus* CNM-FA-01, *Penicillium funiculosum* CNM-FP-01 se cultivă în eprubete pe bragă agarizată timp de 7 zile. Culturile mature se inoculează în baloane conice cu volumul de 250 ml, conținând 50 mL de mediu E-8. Compoziția mediului E-8, g/L: KH₂PO₄ – 0,7; (NH₄)₂HPO₄ – 1,5; NaCl – 0,5; MgSO₄ x 7H₂O – 0,8; apă distilată – până la 1 L. Concentrația substanței active a xenobioticelelor, care asigură creșterea culturilor, constituie 50 mg/L. Cultivarea are loc pe agitator la 28°C. Peste 10 și 30 zile sunt determinate cantitățile remanente ale: fluazifop-butilului, galoxifop-etoxietilului, diclofop-metilului, sclareolului – prin metoda de calcul analitic

50 la cromatografierea în strat subțire; ale clorsulfuronului – la spectrofotometrul CФ-26 cu λ = 254 nm. Drept martor servește compusul sintetic respectiv în mediu steril E-8.

Rezultatele cercetărilor, exemplificate în tabel, atestă că descompunerea xenobioticelelor în prezența microorganismelor *Aspergillus sp. 47* și *P. funiculosum* CNM-FP-01 decurge eficient în raport cu martorul. Însă introducerea în mediu a tulpinii *Asp.alliaceus* CNM-FA-01 deja în primele 10 zile s-a soldat cu o degradare mai substanțială a compușilor sintetici comparativ cu alte variante, iar peste o lună de cultivare xenobioticele specificate (cu excepția sclareolului) sunt complet descompuse.

Astfel, tulpina de fungi microscopici *Aspergillus alliaceus* CNM-FA-01 descompune practic complet următoarele xenobiotice: clorsulfuron, fluazifop-butil, galoxifop-etoxietil, diclofop-metil și sclareol, pe

MD 2364 F1 2004.01.31

4

când *Asp.sp.47* și *P.funiculosum* CNM-FP-01 nu sunt eficiente în degradarea simultană a compușilor specificați.

5

Conținutul substanței active a xenobioticelor
la cultivarea în prezența fungilor microscopici

Tabel

Varianta	Cantitatea substanței active, % peste 10 și 30 de zile									
	clorsulfuron		fluazifop-butil		galoxifop-etoxietil		diclofop-metil		sclareol	
	10	30	10	30	10	30	10	30	10	30
Martor (mediu steril)	96,8	75,5	67,4	65,6	70,8	68,7	82,1	79,5	98,2	93,5
Mediu steril + <i>Aspergillus sp. 47</i>	11,7	9,1	45,0	36,0	55,6	47,5	43,2	36,5	81,4	72,6
Mediu steril + <i>P.funiculosum</i> CNM-FP-01 (soluția cea mai apropiată)	17,5	11,2	12,0	4,5	14,3	5,6	10,7	3,6	79,1	70,8
Mediu steril + <i>Asp.alliaceus</i> CNM-FA-01 (tulpina propusă)	8,4	urme	3,5	urme	3,2	urme	2,9	urme	66,0	39,8

10 Tulpinile de fungi microscopici *Aspergillus alliaceus* CNM-FA-01 descompun activ clorsulfuronul, fluazifop-butilul, galoxifop-etoxietilul, diclofop-metilul, sclareolul și pot fi valorificate în protecția mediului înconjurător de poluarea cu acești compuși sintetici.

15

(57) Revendicare:

1. Tulpină de fungi microscopici *Aspergillus alliaceus* CNM-FA-01 – destructoare de xenobiotice.

(56) Referințe bibliografice:

1. Joshi M., Brown H., Romesser J. Degradation of clorsulfuron by soil microorganisms. În: Weed Sci., 1985, v.33, nr. 6, p. 888-893
2. Bailey A., Coffey M. Characterization of microorganisms involved in accelerated biodegradation of metalaxyl and metolachlor in soils. În: Can. J. Microbiol, 1986, v. 32, p. 562-569
3. Bertilsson B. Targa –a new selective grass herbicides for use in dicot crops. În: Weeds and Control. Reports. 1987, v. 1. p. 19-30
4. Kouzi S.A., McChesney J. D. Microbial metabolism of diterpene sclareol. În: Helvetica Chimica Acta, 1990, v. 73, p. 2157-2164
5. MD 680 G2 1997.09.30

**Director Departament
Invenții:**

CRECETOV Veaceslav

Examinator:

GUȘAN Ala

Redactor:

LOZOVANU Maria