

**RECEȚIONAT**

Agenția Națională pentru Cercetare  
și Dezvoltare \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ 2021

**AVIZAT**

Secția AȘM \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ 2021

**RAPORT ANUAL**

**privind implementarea proiectului din cadrul Programului de Stat (2020-2023)**

**Conservarea și valorificarea biodiversității microbiene în calitate de suport  
pentru dezvoltarea tehnologiilor și agriculturii durabile, integrarea științei și  
educației. 20.80009.7007.09**

**Etapa a. 2021: Evaluarea viabilității și stabilității drojdiilor din CNMN și  
selectarea tulpinilor acvatice cu potențial biotehologic**

Prioritatea Strategică \_\_\_\_\_ **mediu și schimbări climatice**

Conducătorul proiectului

**Sîrbu Tamara**



Directorul organizației

**Cepoi Liliana**



Secretarul științific al Institutului de  
Microbiologie și Biotehologie

**Miscu Vera**



Chișinău 2021

1. Scopul etapei anuale conform proiectului depus la concurs

Evaluarea viabilității și stabilității drojdiilor din CNMN și selectarea tulpinilor acvatice cu potențial biotehnologic

2. Obiectivele etapei anuale

1. Evaluarea viabilității și stabilității drojdiilor din CNMN după 15 ani de conservare;  
2. Conservarea tulpinilor de interes industrial recent depozitate în CNMN (liofilizarea, sub ulei mineral, transfer periodic);  
3. Selectarea tulpinilor acvatice cu potențial biotehnologic.

3. Acțiunile planificate pentru realizarea scopului și obiectivelor etapei anuale

1. Evaluarea viabilității și stabilității a 17 tulpini de drojdii după 15 ani de conservare prin metodele: transfer periodic, sub ulei mineral și liofilizare;  
2. Conservarea prin liofilizare și sub un strat de ulei mineral a 12 tulpini de actinobacterii recent depozitate în CNMN;  
3. Testarea după criteriul antimicrobian și enzimatic, și selectarea tulpinilor cu potențial biotehnologic pentru completarea ulterioară a CNMN cu noi tulpini.

4. Acțiunile realizate pentru atingerea scopului și obiectivelor etapei anuale

1. Au fost revitalizezate 17 tulpini liofilizate de drojdii, ce aparțin genurilor *Rhodotorula* (9), *Sacharomyces* (5), și *Lipomyces* (3) ce se păstrează în CNMN pe două medii de protecție (lapte degresat, 10% lapte degresat). După rehidratare și o serie de diluții succesive soluțiile au fost inoculate pe medii agarizate în cutii Petri. După 48-72 ore, au fost examinate și evaluată viabilitatea și stabilitatea culturilor. Pentru evaluarea viabilității și stabilității tulpinilor păstrate sub ulei mineral, inițial au fost trecute în tuburi cu maț lichid, apoi efectuate 3 pasaje succesive pe mediul agarizat optim pentru tulpinile date. După 48-72 ore a fost efectuată evaluarea lor.

2. Au fost pașaportizate și conservate prin metoda liofilizării și sub un strat de ulei de vazelină 12 tulpini noi de actinobacterii de interes biotehnologic.

3. Au fost testate tulpinile, izolate din bazinul acvatic „La izvor”, după proprietățile antimicrobiene și enzimatic: 70 tulpini de actinobacterii, 26 tulpini de microalge și cianobacterii, 65 tulpini de bacterii și 93 tulpini de fungi.

- A fost testată capacitatea antimicrobiană (antibacteriană, antifungică) față de 10 fitopatogeni.

În calitate de tulpini de referință pentru testele antimicrobiene au fost folosiți fitopatogenii: *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Bacillus subtilis*, *Xanthomonas campestris*, *Corynebacterium miciganensis*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia carotovora*. De asemenea un grup de fungi și bacterii au fost testați față de patogenii: *Escherichia coli* ATCC® 25922™ și *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923™.

- Au fost efectuate testele expres de determinate a capacității enzimatic: amilaza, catalaza, celulaza și lipaza. La determinarea capacității enzimatic au fost folosiți indicatori specifici, pentru fiecare enzimă: amilaza - soluția de Lugol, catalaza – H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (3%), celulaza - carboximetilcelulaza și congo-roșu, lipaza - Tween 80.

- Au fost selectate tulpinile cu potențial antimicrobian și enzimatic semnificativ pentru cercetări ulterioare și completarea CNMN cu noi tulpini microbiene de interes industrial.

## 5. Rezultatele obținute (descriere narativă 3-5 pagini)

### 1) Evaluarea viabilității și stabilității drojdiilor din CNMN după 15 ani de conservare

A fost evaluată viabilitatea și stabilitatea a 17 tulpini de drojdii ce aparțin genurilor *Rhodotorula*, *Sacharomyces*, *Lipomyces* după 15 ani de păstrare în stare liofilizată în CNMN. Datele obținute au demonstrat că, titrul unităților formatoare de colonii (UFC ml<sup>-1</sup>) a tulpinilor de drojdii după 15 ani de conservare în stare liofilizată, indiferent de mediul de protecție utilizat la liofilizare, a scăzut de la 10<sup>4</sup> până la 10<sup>2</sup>, cu 2 unități. Sunt însă și unele excepții unde titrul a scăzut cu o unitate (*Rhodotorula gracilis* CNM-YS-03 (LD 10%), *Lipomyces lipofer* CNM-YS-12 (LD), *Saccharomyces carlsbergensis* CNM-YS-15 (LD, LD 10%). Viabilitatea tulpinilor de drojdii ce aparțin genului *Rhodotorula* după 15 ani de păstrare în stare liofilizată variază în limitele 47,0 - 65,7%, comparativ cu viabilitatea înregistrată după liofilizare. La tulpinile din genul *Lipomyces* viabilitatea este puțin mai mare și variază în limitele 64 - 77,8%. Cea mai joasă viabilitate a fost înregistrată la tulpinile de drojdii ce aparțin genului *Sacharomyces*, care variază de la 46,4% până la 58,8%, cu excepția tulpinii *S. carlsbergensis* CNM-YS-15. La această tulpină viabilitatea, după 15 ani de conservare în stare liofilizată, constituie 88,8 - 90,3%, comparativ cu cea înregistrată imediat după liofilizare.

În rezultatul examinării coloniilor de drojdii după liofilizare nu au fost depistate modificări ale particularităților morfo-culturale, comparativ cu descrierea din pașaportul de depozitare.

Pentru evaluarea viabilității și stabilității morfo-culturale ale tulpinilor de drojdii menționate, păstrate sub un strat de ulei de vazelină, acestea au fost inoculate inițial în tuburi cu mediul malt lichid pentru regenerare, apoi trecute pe medii agarizate pe cutii Petri. Rezultatele obținute au demonstrat că, după primul pasaj tulpinile se dezvoltă slab, coloniile sunt mici și au o culoare mai deschisă ca cea inițială, dar după 3 pasaje, particularitățile morfo-culturale inițiale se restabilesc (coloniile sunt mai mari, culoarea mai pronunțată) și corespund descrierii din pașaportul de depozitare.

### 2) Conservarea tulpinilor de interes industrial recent depozitate în CNMN (liofilizarea, sub ulei mineral, transfer periodic)

Anul acesta au fost depozitate și conservate 12 tulpini noi de actinobacterii din genul *Streptomyces*. Toate tulpinile de actinobacterii au fost liofilizate, iar viabilitatea lor după liofilizare se prezintă în felul următor: 7 tulpini după liofilizare au avut o viabilitate mai mare de 90 % (*Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, 9 (*Streptomyces mauvecolor* CNMN-Ac-12), 66 (*Streptomyces gougerotii* CNMN-Ac-14), *Streptomyces levoris* k-I (*S. levoris* CNMN-Ac-15), *S. levoris* 4 (*S. levoris* CNMN-Ac-16), *Streptomyces* sp. 9 (6) și *Streptomyces* sp. 81); iar la alte 5 tulpini (*Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-10, 33 (*Streptomyces plicatus* CNMN-Ac-13), *Streptomyces* sp. 6 (15), *Streptomyces* sp. 66 (16) și *Streptomyces* sp. 278) viabilitatea după liofilizare variază în limitele 87,6 – 89,7 %.

Conform surselor literare, păstrarea prin metoda liofilizării, asigură un titru înalt și o viabilitate de peste 85 % a tulpinilor din genul *Streptomyces* [Кузнецов, 1977; Кузнецкая, 2011; Филиппова, 2012]. Datele obținute în cercetările noastre sunt în concordanță cu sursele literare și confirmă faptul că, după liofilizare culturile sunt viabile, concentrația UFC este la un nivel foarte înalt, pure, bine dezvoltate și își păstrează proprietățile morfo-culturale inițiale.

De asemenea tulpinile se păstrează sub un strat de ulei mineral și pe medii agarizate.

Dintre tulpinile menționate au fost pașaportizate 5 tulpini noi: *S. mauvecolor* CNMN-Ac-12; *S. plicatus* CNMN-Ac-13; *S. gougerotii* CNMN-Ac-14; *S. levoris* CNMN-Ac-15; *S. levoris* CNMN-Ac-16.

### 3) Selectarea tulpinilor acvatice cu potențial biotehnologic

Au fost testate **70 tulpini de actinobacterii, 65 tulpini de bacterii, 26 tulpini de microalge și cianobacterii, 93 tulpini de fungi** după capacitatea antimicrobiană și enzimatică.

Pentru a evalua activitatea antimicrobiană a microorganismelor, au fost utilizați 10 fitopatogeni ai plantelor: *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, pentru determinarea activității antifungice, iar *Agrobacterium tumefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Corynebacterium michiganense*, *Erwinia carotovora*, *Xanthomonas campestris*, *Escherichia coli* ATCC® 25922™ și *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923™ pentru determinarea activității antibacteriene.

Determinarea activității antimicrobiene a celor **70 tulpini noi de actinobacterii**, a demonstrat că, acestea sunt capabile să inhibe creșterea fungilor fitopatogeni într-o măsură mai mare decât bacteriile fitopatogene, manifestând totodată și o selectivitate strictă, inhibă anumite test-culturi. Astfel, din 25 tulpini de actinobacterii din apă, 4 tulpini sintetizează metaboliți capabili să inhibe în mod activ creșterea fitopatogenilor *Alt. alternata* și *A. niger* (zonele 21,0 – 24,0 mm), de asemenea tulpina 21 (genul *Streptomyces*) are capacitatea de a inhiba creșterea *Alt. alternata* cu zone de inhibiție până la 24,0 mm, însă sunt absente la inhibiția creșterii bacteriilor fitopatogene.

La tulpinile de actinobacterii izolate din biofilm, activitatea antifungică a fost scăzută și doar tulpina 26 (genul *Actinoplanes*), a manifestat antagonism față de *Alt. alternata* și *F. solani* cu zone de până la 20,0 mm, *A. niger* - 16 mm și *F. oxysporum* - 14,0 mm. Activitate antibacteriană, semnificativă nu a prezentat nici o tulpină izolată din biofilm.

Tulpinile izolate din nămol au fost mai active, zonele de inhibare a fungilor fitopatogeni au variat de la 10,0 mm până la 35,0 mm. Au fost observate unele tulpini care față de *A. niger* și *F. oxysporum*, au arătat zone semnificative de inhibare a creșterii (26,0-35,0 mm), iar față de restul fitopatogenilor, dimensiunile zonelor a variat de la 16,0 mm până la 22,0 mm. Din 36 tulpini de actinobacterii izolate din probele de nămol, doar la 7 tulpini a fost depistată capacitatea de a inhiba creșterea bacteriilor fitopatogene testate cu zone de inhibiție care variază în limitele 10-16 mm.

În rezultatul testării proprietăților antimicrobiene a tulpinilor noi de actinobacterii s - a constatat că: diametrul zonelor de inhibiție a fungilor fitopatogeni sub influența a 10 tulpini a variat în limitele 20,0 - 23,0 mm (g. *Actinomadura*: A 1.2, N 1.2, N 1.3; *Actinoplanes*: A 2.1, B 2.1, N 2.4, *Micromonospora*: A 5.3, N 5.4, N 5.5; *Geodermatophilus*-N 4.3), iar sub influența metaboliților a 6 tulpini de actinobacterii diametrul zonelor de inhibiție a variat în limitele 24,0-35,0 mm;

Activitate antibacteriană în raport cu 5 tulpini bacterii de referință au manifestat tulpinile: din g. *Streptomyces* - A 8.8, B 8.1, B 8.3, N 8.1, N 8.3 (zone de la 11,0 la 16,0 mm) și din genul *Nocardia* - N 6.1 (zone de la 12.0 la 15.0 mm), izolate din apă, biofilm și nămol.

La testarea capacității enzimatice a actinobacteriilor s-au identificat 45 tulpini cu activitate slabă de amilază (+) și 1 tulpină (g. *Frankia*) cu activitate medie a amilazei (++) . Activitatea catalazică slabă (+) a fost observată la 31 tulpini, medie (++) la 17 tulpini și mare (+++) la 4 tulpini (reprezentanți ai genului *Rhodococcus*, *Actinoplanes* și *Geodermatophilus*). Activitatea slabă (+) a

celulazei a fost detectată la 9 tulpini. Activitatea slabă (+) a lipazei a fost observată la 14 tulpini, activitatea medie a lipazei (++) la 6 tulpini și ridicată (+++) la 1 tulpină de g. *Actinomadura*;

Astfel, în rezultatul acestui studiu au fost identificați reprezentanți de interes, care au prezentat activitate enzimatică ridicată (catalază - *Rhodococcus* A 7.1, *Actinoplanes* B 2.1, N 2.1, *Geodermatophilus* N 4.6, *Actinomadura*; lipaza - N 1.1) și tulpini cu activitate antifungică ridicată (împotriva *F. oxysporum* - N 2.4, N 5.1, N 6.2 (26,0 mm); împotriva *A. niger* - N 5.5 (35.0 mm), N 6.2 (30.0 mm), N 8.4 (33.0 mm); și împotriva *A. alternata* A 8.5 (24.0 mm) și N 1.2 (23.0 mm).

Din **65 culturi de bacterii** testate după capacitatea antimicrobiană, 25 tulpini au prezentat activitate antifungică față de *Alt. alternata* (zona de inhibiție 16,0 - 35,0 mm), 33 tulpini față de *B. cinerea* (zone de 15,5 - 36,7 mm), 13 tulpini față de *F. solani* (zone 15,2 - 33 mm), 18 tulpini față de *F. oxysporum* (zone de 15,5 - 33,5 mm) și 6 tulpini față de *A. niger* (zonele de inhibiție 11,5 - 19,0 mm). Din numărul total de tulpini bacteriene testate 17 nu au manifestat activitate antifungică nici față de un fitopatogen.

Dintre tulpinile izolate din apă (25 tulpini) cele mai multe au fost active față de fitopatogenul *B. cinerea* (12 tulpini) și față de *Alternaria alternata* (8 tulpini), iar față de *A. niger* nici una nu a manifestat antagonism. Tulpinile izolate din nămol (22 tulpini) de asemenea au fost active față de fitopatogenii *B. cinerea* și *A. alternata* (cite 10 tulpini), iar 5 tulpini au manifestat antagonism față de *A. niger*. Aceiași legitate a fost observată și în cazul tulpinilor izolate din biofilm. 7 din cele 18 tulpini au manifestat antagonism față de *B. cinerea*, 9 față de *A. alternata* și 2 față de *A. niger*.

Tulpinile 32, 33 (izolate din nămol) și 57 (izolată din biofilm) au demonstrat efect inhibitor față de toate cinci tulpini de referință, iar 25 tulpini de bacterii au manifestat activitate antifungică doar față de unii din fitopatogenii testați, cu zone de inhibiție ce variază de la 15 mm până la 38 mm. De asemenea, în rezultatul cercetării proprietăților antimicrobiene, s-a stabilit că 2 tulpini (32 și 46) au prezentat o activitate antagonistă sporită față de tulpina de referință *E. coli* ATCC® 25922™.

În rezultatul studiului capacității enzimatică a 65 tulpini de bacterii s-a observat că activitatea amilazei la nivel mediu (++) posedă 31 tulpini, la nivel slab (+) - 15 tulpini, restul lipsă. Activitatea catalazei la nivel mediu (++) s-a manifestat la 41 tulpini, la nivel slab (+) la 20 tulpini, restul lipsă. Activitatea celulazei la nivel mediu (++) - 27 tulpini, la nivel slab (+) - 3 tulpini, restul lipsă. Activitatea lipazei la nivel mediu (++) a fost înregistrată la 19 tulpini, la nivel slab (+) la 2 tulpini, restul lipsă. Cele mai active din punct de vedere enzimatic au fost tulpinile izolate din biofilm.

Conform studiului activității antimicrobiene și enzimatică din numărul total de bacterii au fost selectate 12 tulpini, cele mai active, dintre care 4 tulpini (1, 7, 12, 22) din apă, din nămol 3 tulpini (32, 38 și 46), iar din biofilm au fost selectate 5 tulpini (51, 54, 57, 61, 65).

Din **26 de tulpini de microalge și cianobacterii** au fost selectate 7 tulpini de cianobacterii și 1 tulpină de microalge (*Chlorella*), care au prezentat activitate antifungică față de *Alt. alternata*, în special *Oscillatoria acutissima* și *Spirulina major*, au demonstrat un efect inhibitor semnificativ cu zone de inhibare de 24 - 25 mm. Efect inhibitor asupra creșterii culturii de fungi *A. niger* au prezentat 4 tulpini - *Oscillatoria planctonica*, *Chlorella vulgaris*, *O. brevis* și *O. acutissima*, dintre care o acțiune foarte pronunțată a demonstrat-o cianobacteria *O. brevis*, prezentând o zonă de inhibiție de 40 mm. S-a observat că tulpinile *O. planctonica*, *C. vulgaris*, *O. acutissima*, *S. major* și *Anabaena variabilis* rețin creșterea fitopatogenului *B. cinerea*, cea mai activă fiind *O. acutissima* (diametrul zonei de inhibiție 24mm).

Zone de inhibare a creșterii fitopatogenului *F. solani* au fost stabilite la tulpinile *O. planctonica*, *C. vulgaris*, *O. acutissima*, *S. major*, *A. variabilis* și *Nostoc verrucosum* (20-24 mm).

Acțiune inhibitorie asupra creșterii fitopatogenului *F. oxysporum* a manifestat doar cianobacteria *O. acutissima*, prezentând o zonă de inhibiție semnificativă (30 mm).

Tulpinile de microalge și cianobacterii studiate au manifestat acțiune antibacteriană față de 3 din cele 5 bacterii fitopatogene (*B. subtilis*, *X. campestris*, *E. caratovora*). Față de fitopatogenii *C. miciganense* și *A. tumefaciens* nu a fost înregistrată activitate antimicrobiană. Diametrul zonelor de inhibare a creșterii bacteriilor fitopatogene a variat de la 10,5 la 30,0 mm. Activitate antibacteriană maximă a exprimat-o microalga *C. vulgaris* față de *B. subtilis* (30 mm), *X. Campestris* (26 mm) și *E. caratovora* (25,5 mm). *O. planctonica* a prezentat o activitate semnificativă de inhibare a fitopatogenului *B. subtilis* (27,5 mm) și *X. campestris* (26,5 mm). De asemenea *S. major* a prezentat o acțiune antibacteriană evidentă asupra *B. subtilis* (zona de inhibare a creșterii - 28 mm).

La determinarea activității enzimatică s-a stabilit că tulpina *N. verrucosum* are un potențial înalt (+++) la cele 4 enzime studiate. *S. major* a prezentat o activitate celulazică înaltă (+++), iar activitățile amilolitică, catalazică, lipazică au fost mai diminuate (+). La tulpina *C. vulgaris* activitatea catalazei, celulazei și lipazei era sporită (+++), iar activitatea amilazei scăzută (+). *O. brevis* a manifestat activitate catalazică, celulazică și lipazică medie (++) , iar *O. planctonica* – activitate celulazică și lipazică medie (++) . Tulpina *A. variabilis* a exprimat o activitate celulazică și lipazică înaltă (+++), iar *Aphanizomenon flos-aquae* a prezentat activități enzimatică (amilaza, catalaza, celulaza și lipaza) mai slabe în comparație cu celelalte tulpini luate în studiu.

A fost testată capacitatea antimicrobiană a **33 tulpini de fungi**, reprezentanți ai genurilor *Penicillium* și *Trichoderma*, care se consideră, cei mai activi inhibitori ai fitopatogenilor. Din apă (A) au fost selectate 14 tulpini, biofilm (B) – 3 tulpini și 16 din nămol (N).

S-a stabilit că din 14 tulpini din apă, 12 au manifestat antagonism doar față de unii fungii fitopatogeni, 6 tulpini au manifestat antagonism față de 5 fitopatogeni, iar 1 tulpină – numai față de *B. cinerea*. Diametrul zonelor de inhibiție a fitopatogenilor sub influența metaboliților tulpinilor testate a variat în limitele 11-41 mm. Cele mai semnificative rezultate antifungice au fost înregistrate de tulpinile A6 față de *Alt. alternata*, *F. solani* și *F. oxysporum*, (zone de inhibiție 24,6 – 26,0 mm), tulpinile 9, 10, 13 față de *B. cinerea*, *F. solani* și *F. oxysporum* (zone de inhibiție 26,3 – 37 mm).

Din cele 3 tulpini din biofilm nici nu a demonstrat capacități antifungice semnificative.

Mai active față de fungii fitopatogen au fost tulpinile izolate din nămol. Din 16 tulpini una nu a manifestat antagonism față de fitopatogenii menționați. Față de *A. niger* au manifestat antagonism 7 tulpini, diametrul zonelor de inhibiție variind în limitele 16,0 – 23,0 mm, față de *Alt. alternata* și *F. solani* - 15 tulpini (diametrul zonelor 16 – 40 mm), față de *B. cinerea* 13 tulpini (zone 13 – 41 mm), iar față de *F. oxysporum* 12 tulpini, cu zone de inhibiție de la 11 până la 40 mm.

Mai active au fost tulpinile testate față de bacteriile fitopatogene. Astfel, din cele 14 tulpini din apă, 12 au manifestat antagonism față de tulpinile de referință, diametrul zonelor de inhibiție a fitopatogenilor variind în limitele 12,7 - 34,7 mm. Cele mai semnificative rezultate antibacteriene au fost observate la tulpinile A1, A3, A14, diametrul zonelor de inhibiție fiind de 22,0 – 34,7 mm.

Din cele 3 tulpini din biofilm, 2 au manifestat antagonism față de 4 fitopatogeni, zonele de inhibiție fiind în limitele 22,7 - 32,3 mm.

Tulpinile izolate din nămol au fost mai active față de bacteriile fitopatogene și numai tulpina N1 nu a manifestat antagonism față de tulpinile bacteriene de referință. Diametrul zonelor de inhibiție a fitopatogenului *B. subtilis* a variat în limitele 30,7-38 mm, iar la restul tulpinilor de referință, cu mici excepții, zonele variază în limitele 20 - 30,7 mm.

Activitate bacteriană față de *Escherichia coli* ATCC® 25922™ și *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923™ nu a manifestat nici o tulpină de fungi luați în studii.

Astfel, prezintă interes, din punct de vedere al activității antimicrobiene, următoarele tulpini: A1, A3, A6, A 14 (din apă); N 7; N9, N10, N12, N13 și N 29 (din nămol).

După capacitatea enzimatică (amilaza, catalaza, celulaza, lipaza) au fost testate **93 tulpini de fungi** (35 izolate din apă, 28 din biofilm și 30 din nămol).

S-a stabilit că, la 12 tulpini din apă activitatea catalazei e la nivel mediu (++), la 11 tulpini - slabă (+), iar la 12 tulpini - lipsește (-). Activitatea amilazei, lipazei și celulazei, a fost slabă la majoritatea tulpinilor testate. Numai câte 4 tulpini au înregistrat o activitate enzimatică medie (++) a celor 3 enzime. La restul tulpinilor activitatea acestor enzime este slabă (+) sau lipsește (-).

Tulpinile din biofilm am manifestat capacități enzimaticice numai la nivel slab (+) sau lipsă.

Din 30 tulpini izolate din nămol activitatea catalazei la nivel mediu (++) a fost înregistrată la 20 tulpini, la nivel slab (+) la 8 tulpini și lipsă (-) la 2 tulpini. Activitate a amilazei la nivel mediu au manifestat 18 tulpini, la nivel slab - 10 tulpini. Activitatea lipazei la nivel mediu – 18 tulpini, la nivel slab – 9 tulpini, lipsă la 3 tulpini. Activitatea celulazei: la nivel mediu 6 tulpini, la nivel slab - 19 tulpini, lipsă – 5 tulpini. Numai la 4 tulpini a fost înregistrată activitatea enzimatică a catalazei, amilazei, lipazei și celulazei la nivel mediu (++)

Pentru cercetările ulterioare au fost selectate 4 tulpini de fungi din apă și 8 tulpini din nămol, ce posedă atât activitate antimicrobiană, cât și enzimatică semnificativă.

Astfel în rezultatul acestui studiu s- a stabilit că:

1. Viabilitatea tulpinilor de drojdii după 15 ani de păstrare în stare liofilizată variază de la 46,4% pînă la 77,8%.

2. Pentru revitalizarea și restabilirea proprietăților morfo-culturale inițiale a tulpinilor de drojdii, se recomandă inocularea lor în tuburi cu mediul malț lichid, apoi transferul pe mediul agarizat și efectuarea a 3 pasaje consecutive.

3. Toate tulpinile de drojdii după 15 ani de păstrare prin metodele: transfer periodic, sub un strat de ulei de vazelină, liofilizare sunt viabile și și-au păstrat particularitățile morfo-culturale inițiale.

4. Viabilitatea celor 12 tulpini de actinobacterii din genul *Streptomyces* după liofilizare, în prezența mediului lioprotector (gelatină 2.5 % + glucoză 7.5 %) și regimului de congelare -50°C, variază în limitele 87,6-98,0%.

5. În rezultatul testării noilor tulpini izolate din bazinul acvatic „La izvor,, după capacitatea antimicrobiană și enzimatică au fost selectate cele mai active ce prezintă interes biotehologic: 12 tulpini de actinobacterii, 7 tulpini de cianobacterii și 1 tulpină de microalge, 12 tulpini de bacterii și 12 tulpini de fungi.

## 6. Diseminarea rezultatelor obținute în proiect în formă de publicații

(a fost completată conform instrucțiunilor din Anexa 1 A)

### 4. Articole în reviste științifice

#### 4.1. în reviste din bazele de date Web of Science și SCOPUS (cu indicarea factorului de impact IF)

1. BOORTSEVA, S.; BYRSA, M.; SHIBAEVA, I.; SHIBAEV, A.; CEBOTARU, A.; CODREANU, S. În the antimicrobial properties of *Streptomyces canosus* CNMNAc-02 and its variants during long-term storage by subculturing. In: *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie*. 2021, 28 (1), 20-26. ISSN 1224-5119. (IF: 0,08). [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/126715](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/126715)
2. SIRBU, T.; MOLDOVAN, C; TURCAN, O. Assessment of micromycetes viability from National Collection of Non-pathogenic Microorganisms after 15 years of storage. In: *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie*. 2021, 28 (1), 78-84. ISSN 1224-5119. (IF: 0,08). [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/126733](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/126733)

### 5. Articole în culegeri științifice naționale/internaționale

#### 5.1. culegeri de lucrări științifice editate peste hotare

3. БУРЦЕВА, С.А.; БЫРСА, М.Н.; ЧЕБОТАРЬ, В.И. Актинобактерии в микробном сообществе озерной системы «La izvor», г. Кишинев. Экология родного края: проблемы и пути их решения. В: *Материалы XVI Всероссийской научно-практической с международным участием конференции. Книга 2. (г. Киров, 27–28 апреля 2021 г.)*, Киров: ВятГУ, 2021. с. 62-67. ISBN 978-5-98228-242-2. <http://envjournal.ru/ecolab/sbor/2112.pdf>
4. СЫРБУ, Т.Ф.; СЛАНИНА, В.А.; БАТЫР, Л.М.; МОЛДОВАН, К.Е. Микроорганизмы, преобладающие в озере „La izvor”. Экология родного края: проблемы и пути их решения. В: *Материалы XVI Всероссийской научно-практической с международным участием конференции. Книга 2. (г. Киров, 27–28 апреля 2021 г.)*, Киров: ВятГУ, 2021. с. 59-62. ISBN 978-5-98228-242-2. <http://envjournal.ru/ecolab/sbor/2112.pdf>
5. ЦУРКАН, О. Кислые и сульфатированные эндо- и экзополисахариды при культивировании цианобактерии *Spirulina platensis* в присутствии координационных соединений Cu (II). Экология родного края: проблемы и пути их решения. В: *Материалы XVI Всероссийской научно-практической с международным участием конференции. Книга 2. (г. Киров, 27–28 апреля 2021 г.)*, Киров: ВятГУ, 2021. с. 73-78. ISBN 978-5-98228-242-2. <http://envjournal.ru/ecolab/sbor/2112.pdf>
6. МОЛДОВАН, К. Разнообразие микромицетов в озере «Ла извор» (город Кишинев). Экология родного края: проблемы и пути их решения. В: *Материалы XVI Всероссийской научно-практической с международным участием конференции. Книга 1. (г. Киров, 27–28 апреля 2021 г.)*, Киров: ВятГУ, 2021. с. 73-78. ISBN 978-5-98228-242-2. <http://envjournal.ru/ecolab/sbor/2111.pdf>
7. TIMUȘ, I. Activitatea antifungică a micromicetelor după păstrare în stare liofilizată în dependență de mediul de rehidratare. In: *Lucrările Simpozionului științific național cu participare internațională: Biotehnologii moderne - soluții pentru provocările lumii contemporane* Chișinău, 2021. pp. 122-127. <https://doi.org/10.52757/imb21.069>
8. ȚURCAN, O. Izolarea unor tulpini de alge din lacul „La izvor” (or.Chișinău). În: *Materialele*



Conferinței științifico-practice cu participare internațională "Instruire prin cercetare pentru o societate prosperă": Ed. a XVIII-a, 2021. vol. 1, pp. 145-152. ISBN 978-9975-76-327-1. [https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare\\_articol/127498/cerif](https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/127498/cerif)

9. MOLDOVAN, C. Diversitatea micromicetelor din biofilme a bazinului acvatic „La izvor” din municipiul Chișinău. În: *Materialele Conferinței științifico-practice cu participare internațională "Instruire prin cercetare pentru o societate prosperă": Ed. a XVIII-a, 2021. vol. 1, pp. 102- 107. ISBN 978-9975-76-327-1. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/127492](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/127492)*
10. БУРЦЕВА, С.А.; БЫРСА, М.Н.; ЧЕБОТАРЬ, В.И. Разнообразие представителей класса Actinobacteria в водной толще озерной системы «La izvor». În: *Materialele Conferinței Științifico-practice cu participare internațională "Instruire prin cercetare pentru o societate prosperă": Ed. a XVIII-a, 2021. vol. 1, pp. 165-172. ISBN 978-9975-76-327-1. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/127529](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/127529)*
11. SLANINA, V.; BATÎR, L.; SÎRBU, T. Studiul bacteriilor din lacul „La izvor” municipiul Chișinău. În: *Materialele Conferinței științifico-practice cu participare internațională "Instruire prin cercetare pentru o societate prosperă": Ed. a XVIII-a, 2021. vol. 1, pp. 136 - 144. ISBN 978-9975-76-327-1. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/127497](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/127497)*
12. SÎRBU, T.; ȚURCAN, O.; MOLDOVAN, C.; TIMUȘ, I. Modificările micromicetelor după o perioadă îndelungată de conservare. În: *Materialele Conferinței științifico-practice cu participare internațională "Instruire prin cercetare pentru o societate prosperă": Ed. a XVIII-a, 2021. V.1, pp. 257-264. ISBN 978-9975-76-327-1. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/12758](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/12758)*
13. SLANINA, V; BOGDAN N. Studiarea bacteriilor izolate din namolul lacurilor parcului „La izvor”. În: *materialele Conferinței științifice naționale cu participare internațională „Integrare prin cercetare și inovare”, dedicată aniversării a 75-a a Universității de Stat din Moldova, Chișinău, 10-11 noiembrie 2021, pp. 112-114. ISBN 978-9975-152-48-8. [https://cercetare.usm.md/wp-content/uploads/Stiinte\\_naturii\\_exacte.pdf](https://cercetare.usm.md/wp-content/uploads/Stiinte_naturii_exacte.pdf)*
14. SÎRBU, T.; TINUȘ, I. Acțiunea mediilor de rehidratare în baza nanoparticulelor asupra viabilității micromicetelor liofilizate. În: *Materialele Conferinței științifice naționale cu participare internațională „Integrare prin cercetare și inovare”, dedicată aniversării a 75-a a Universității de Stat din Moldova, Chișinău, 10-11 noiembrie 2021, p. 63-65. ISBN 978-9975-152-48-8. [https://cercetare.usm.md/wp-content/uploads/Stiinte\\_naturii\\_exacte.pdf](https://cercetare.usm.md/wp-content/uploads/Stiinte_naturii_exacte.pdf)*

## 7. Teze ale conferințelor științifice

### 7.3. în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională

15. BATÎR, L.; SLĂNINĂ, V. Modificarea conținutului de proteine și carbohidrați în biomasa levurilor liofilizate în prezența extractelor din spirulină. In: *Lucrările Simpozionului științific național cu participare internațională: Biotehnologii moderne - soluții pentru provocările lumii contemporane [On-Line]. Chișinău, 2021. p.129 ISBN 978-9975-3498-7-1. <https://doi.org/10.52757/imb21.071>*
16. BIRSA, M.; CEBOTARI, V.; BURTSEVA, S. Presence of actinobacteria in the aquatic ecosystems of the “La izvor” lake system in the Chisinau city. In: *Lucrările Simpozionului științific național cu participare internațională: Biotehnologii moderne - soluții pentru provocările lumii contemporane [On-Line]. Chișinău, 2021. p.41. ISBN 978-9975-3498-7-1. <https://doi.org/10.52757/imb21.007>*

17. LUPAȘCU, L.; PETUHOV, O.; LUPASCU, T.; SLĂNINĂ, V., CHISELITSA, O. Study of the absorption of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* on activated charcoal obtained from apricot husks. In: *Lucrările Simpozionului științific național cu participare internațională: Biotehnologii moderne - soluții pentru provocările lumii contemporane [On-Line]*. Chișinău, 2021. p. 147. ISBN 978-9975-3498-7-1. <https://doi.org/10.52757/imb21.089>
18. LUPAȘCU, L.; TIMBALIUC, N.; LUPASCU, T.; SLĂNINĂ, V. Antimicrobial activity of the tannins isolated from walnut (*Juglans regia* L.). In: *Lucrările Simpozionului științific național cu participare internațională: Biotehnologii moderne - soluții pentru provocările lumii contemporane [Online]*. Chișinău, 2021. p.146. ISBN 978-9975-3498-7-1. <https://doi.org/10.52757/imb21.088>
19. MELNIC, M.; RUSU, Ș.; TODIRAȘ V.; SLĂNINĂ, V. Tulpini de bacterii cu efect nematocid. In: *Lucrările Simpozionului științific național cu participare internațională: Biotehnologii moderne - soluții pentru provocările lumii contemporane [Online]*. Chișinău, 2021. p. 70. ISBN 978-9975-3498-7-1. <https://doi.org/10.52757/imb21.036>
20. SÎRBU, T.; MOLDOVAN, C.; ȚURCAN, O. Liofilizarea – metodă sigură de conservare a microorganismelor de interes biotehnologic. In: *Lucrările Simpozionului științific național cu participare internațională: Biotehnologii moderne - soluții pentru provocările lumii contemporane [Online]*. Chișinău, 2021. p.92. ISBN 978-9975-3498-7-1. <https://doi.org/10.52757/imb21.058>
21. SÎRBU, T.; MOLDOVAN, C.; ȚURCAN, O.; SLANINĂ, V.; BATÎR, L. Mediul acvatic – sursă de microorganisme de interes biotehnologic. In: *Lucrările Simpozionului științific național cu participare internațională: Biotehnologii moderne - soluții pentru provocările lumii contemporane [On-Line]*. Chișinău, 2021. p.91. ISBN 978-9975-3498-7-1. <https://doi.org/10.52757/imb21.057>
22. SÎRBU, T.; MOLDOVAN, C.; ȚURCAN, O.; TIMUȘ, I.; GORINCIOI, V. Activitatea antifungică a micromicetelor după liofilizare și conservare în prezența nanoparticulelor. In: *Lucrările Simpozionului științific național cu participare internațională: Biotehnologii moderne - soluții pentru provocările lumii contemporane [On-Line]*. Chișinău, 2021. p. 90. ISBN 978-9975-3498-7-1. <https://doi.org/10.52757/imb21.056>
23. SLANINA, V.; BALAN, (BATÎR) L. Izolarea și evaluarea diversității bacteriilor din apa lacurilor parcului „La izvor”. In: *Lucrările Simpozionului științific național cu participare internațională: Biotehnologii moderne - soluții pentru provocările lumii contemporane [Online]*. Chișinău, 2021. p.93. ISBN 978-9975-3498-7-1. <https://doi.org/10.52757/imb21.059>
24. MOLDOVAN, C. Diversitatea micromicetelor determinate în lacul La izvor In: *Lucrările Simpozionului științific național cu participare internațională: Biotehnologii moderne - soluții pentru provocările lumii contemporane [Online]*. Chișinău, 2021, p.74. ISBN 978-9975-3498-7-1 <https://doi.org/10.52757/imb21.056>
25. ȚURCAN, O. Antioxidant activity of sulphated exopolysaccharides obtained from *Spirulina platensis*. În: *International Congress of Geneticists and Breeders from the Republic of Moldova*, ed. XI, Chișinău, Moldova, 15-16 iunie 2021. Abstract book, p. 167. <https://doi.org/10.53040/cga11.2021.138>
26. SÎRBU, T.; MOLDOVAN, C.; SLANINA, V. Study of the enzymatic properties of some

microorganisms isolated from lake La izvor. În: *International Congress of Geneticists and Breeders from the Republic of Moldova*", ed. XI, Chişinău, Moldova, 15-16 iunie 2021, Abstract book, p. 162. <https://doi.org/10.53040/cga11.2021.138>

27. SLANINA, V.; BATÎR, L. Conservation of yeast strains of biotechnological interes. În: *International Congress of Geneticists and Breeders from the Republic of Moldova*", ed. XI, Chişinău, Moldova, 15-16 iunie 2021, Abstract book, p. 163. <https://doi.org/10.53040/cga11.2021.138>
28. BÎRSA, M.; BURTEVA, S., MASLOBROD, S. Phytostimulating properties of metabolites of *Streptomyces*. În: *International Congress of Geneticists and Breeders from the Republic of Moldova*", ed. XI, Chişinău, Moldova, 15-16 iunie 2021, Abstract book, p. 143. <https://doi.org/10.53040/cga11.2021.138>

#### **8 Brevete de invenție și materiale la saloanele de invenții**

29. SÎRBU, T.; TIMUȘ, I.; CORINCIOI, V.; MOLDOVAN, C.; ȚURCAN, O. Mediul pentru liofilizarea tulpinilor de fungi din genul *Aspergillus*. *Brevet de invenție MD 1467* din 21.05.2020.
30. SÎRBU, T.; TIMUȘ, I.; CORINCIOI, V.; ȚURCAN, O.; MOLDOVAN, C. Mediul pentru liofilizarea tulpinilor de fungi din genul *Trichoderma*. *Brevet de invenție MD 1475* din 21.05.2020.
31. SÎRBU, T.; TIMUȘ, I.; GORINCIOI V.; MOLDOVAN C.; ȚURCAN O.; BÎRSA M., Medium for lyophilization of fungal strains of the genus *Trichoderma*. *Salonului „Cadet INOVA” Cercetări și inovații în viziunea tinerilor cercetători*, 15-17 aprilie 2021 (Catalog oficial, p. 239. ISSN 2501-3157. <https://cadetnova.ro/index.php/ro/organizare/catalog/catalog-inova-21>
32. SÎRBU, T.; TIMUȘ, I.; GORINCIOI V.; MOLDOVAN C.; ȚURCAN O.; BÎRSA M. Medium for lyophilization for fungal strains of the genus *Aspergillus*. *Proceedings of the 13<sup>th</sup> Edition of Euroinvent 2021*, Iași, România. Catalog oficial, p.216. ISSN 2601-4572 <http://www.euroinvent.org/cat/E2021.pdf>
33. SÎRBU T., TIMUȘ I., GORINCIOI V., MOLDOVAN C., ȚURCAN O., BÎRSA, M. Medium for lyophilization of fungal strains of the genus *Trichoderma*. *Proceedings of the 13<sup>th</sup> Edition of Euroinvent 2021*, Iași, România. Catalog oficial, p.216. ISSN 2601-4572 <http://www.euroinvent.org/cat/E2021.pdf>
34. SÎRBU, T.; TIMUȘ, I.; GORINCIOI V.; MOLDOVAN C.; ȚURCAN O.; BÎRSA M. Medium for lyophilization for fungal strains of the genus *Trichoderma*. *The 25<sup>th</sup> International Exhibition of Inventions INVENTICA 2021*, 23-25 iunie, Iași, România, p.302. ISSN 1844-7880 <https://ini.tuiasi.ro/exhibition/wp-content/uploads/sites/5/2021/06/Volum%20INVENTICA%202021.pdf>
35. SÎRBU, T.; TIMUȘ, I.; GORINCIOI, V.; MOLDOVAN, C.; BOGDAN, N.; ȚURCAN, O. Medium for lyophilization of fungal strains of the genus *Trichoderma*. *Salonul internațional „Inovări și Invenții” PRO INVENT, ediția a XIX-a, 20-22 octombrie 2021*, Cluj-Napoca, România, p. 151. ISSN 2810-2789. <https://proinvent.utcluj.ro/img/catalogs/2021.pdf>
36. SÎRBU, T.; TIMUȘ, I.; GORINCIOI, V.; MOLDOVAN, C.; ȚURCAN, O.; BOGDAN, N. Medium for lyophilization of fungal strains of the genus *Trichoderma*. *Salonul Internațional Infoinvent, 17-20 noiembrie, Chişinău, Moldova. (În tipar)*

37. SÎRBU, T.; TIMUȘ, I.; GORINCIOL, V.; MOLDOVAN, C.; ȚURCAN, O. Medium for lyophilization of fungal strains of the genus *Aspergillus*. *Salonul Internațional Infoinvent, 17-20 noiembrie, Chișinău, Moldova. (În tipar)*

## **7. Impactul științific, social și/sau economic al rezultatelor științifice obținute în cadrul proiectului**

**Impactul științific:** Rezultatele obținute în acest proiect au demonstrat că, metodele utilizate la conservarea fondului microbial al Republicii Moldova sunt corecte, sigure și de durată. În CNMN sunt depozitate și păstrate prin diferite metode tulpini de microorganisme de interes industrial, cât și tulpini neidentificate, izolate din diverse areale (apă, sol, plante, etc). Aceste tulpini pot fi utilizate ca material didactic în instituțiile medii și superioare, în care se studiază microbiologia și biotehnologia. De asemenea, pot fi utilizate în Instituții științifice pentru identificarea noilor producători de substanțe bioactive de interes biotehnologic.

**Impactul social:** Rezultatele prezentate în raport demonstrează că, fondul microbial depozitat și păstrat în CNMN ce află în stare bună și sigură. Viabilitatea și stabilitatea microorganismelor este la un nivel înalt, după o perioadă îndelungată de timp, ceea ce asigură păstrarea biodiversității microbiene intacte. Iar tulpinile selectate recent completează acest fond cu noi tulpini.

**Impactul economic.** Evaluarea periodică a viabilității și stabilității tulpinilor de interes industrial din CNMN demonstrează că, tulpinile își păstrează atât viabilitatea, cât și stabilitatea de producător și pot fi utilizate în producerea biopreparatelor, necesare în diverse domenii ale economiei. De asemenea, tulpinile noi selectate, cu potențial antimicrobial și enzimatic înalt, sunt de perspectivă și pot fi utilizate în scopuri biotehnologice.

## **8. Infrastructura de cercetare utilizată în cadrul proiectului**

Pentru realizarea acestui proiect au fost utilizate următoarele utilaje: autoclav, termostat, frigider, congelator (-80°C), lampe bactericide, liofilizator, microscop, fotoelectocolorimetru.

## **9. Colaborare la nivel național în cadrul implementării proiectului**

În cadrul implementării proiectului colaborăm cu cercetători din diverse instituții, ce depozitează tulpinile de interes biotehnologic în CNMN; Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecția Plantelor, Institutul de Horticultură și Tehnologii Alimentare, Universitatea Tehnică, Institutul de Zoologie, etc.

## **10. Colaborare la nivel internațional în cadrul implementării proiectului**

Au fost efectuate teste antimicrobiene a 14 tulpini noi de bacterii și 15 tulpini de fungi asupra tulpinilor patogene *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923™ și *Escherichia coli* ATCC® 25922™) la Institutul de Biologie din București, România.

## **11. Dificultățile în realizarea proiectului:**

Imposibilitatea de a cumpăra utilaj necesar pentru congelarea probelor necesare pentru liofilizare.

**12. Diseminarea rezultatelor obținute în proiect în formă de prezentări la foruri științifice (comunicări, postere – pentru cazurile când nu au fost publicate în materialele conferințelor, reflectate în p. 6)**

➤ **Manifestări științifice internaționale (în străinătate)**

BÎRSA MAXIM, dr. biol.; Conferința internațională Экология родного края: проблемы и пути их решения, ВятГУ; Россия, Киров, 27–28 апреля, 2021; Актинобактерии в микробном сообществе озерной системы La izvor г. Кишинев (**oral**).

SÎRBU TAMARA, dr. biol.; Conferința internațională Экология родного края: проблемы и пути их решения, ВятГУ; Россия, Киров, 27–28 апреля, 2021; Микроорганизмы, преобладающие в озере La izvor. г. Кишинев (**oral**).

ȚURCAN OLGA, cercet. șt.; Conferința internațională Экология родного края: проблемы и пути их решения, ВятГУ; Россия, Киров, 27–28 апреля, 2021; Кислые и сульфатированные эндо- и экзополисахариды при культивировании цианобактерии *Spirulina platensis* в присутствии координационных соединений Cu (II) (**oral**).

**Manifestări științifice internaționale (în Republica Moldova)**

BÎRSA MAXIM, dr. biol.; Conferința internațională International Congress of Geneticists and Breeders from the Republic of Moldova, ed. XI; IGFPP, Chișinău, Moldova, 15-16 iunie 2021; Phytostimulating properties of metabolites of *Streptomyces* (**oral**).

SÎRBU TAMARA, dr. biol.; Conferința internațională International Congress of Geneticists and Breeders from the Republic of Moldova, ed. XI; IGFPP, Chișinău, Moldova, 15-16 iunie 2021; Study of the enzymatic properties of some microorganisms isolated from lake La izvor (**oral**).

**Manifestări științifice cu participare internațională**

**Simpozionului științific național cu participare internațională: Biotehnologii moderne - soluții pentru provocările lumii contemporane [Online]. Chișinău,**

BÎRSA MAXIM, dr. biol.; Simpozionului științific național cu participare internațională: Biotehnologii moderne - soluții pentru provocările lumii contemporane; IMB, Chișinău, Moldova, 20-21 mai, 2021; Presence of actinobacteria in the aquatic ecosystems of the “La izvor” lake system in the Chisinau city (**oral**).

ȚURCAN OLGA, cercet. șt. Simpozionului științific național cu participare internațională: Biotehnologii moderne - soluții pentru provocările lumii contemporane; IMB, Chișinău, Moldova, 20-21 mai, 2021; Izolarea unor tulpini de alge din lacul La izvor (or. Chișinău) (**oral**).

SÎRBU TAMARA, dr. biol.; Simpozionului științific național cu participare internațională: Biotehnologii moderne - soluții pentru provocările lumii contemporane; IMB, Chișinău, Moldova, 20-21 mai, 2021; Liofilizarea – metodă sigură de conservare a microorganismelor de interes biotehologic (**oral**).

MOLDOVAN CRISTINA, cercet. șt.; Simpozionului științific național cu participare internațională: Biotehnologii moderne - soluții pentru provocările lumii contemporane; IMB, Chișinău, Moldova, 20-21 mai, 2021; Diversitatea micromicetelor determinate în lacul La izvor (**oral**).

ȚURCAN OLGA, cercet. șt.; Conferința științifico-practică cu participare internațională "Instruire prin cercetare pentru o societate prosperă": Ed. a XVIII-a; UST, Chișinău, Moldova, 20-21 martie

2021; Izolarea unor tulpini de alge din lacul La izvor (or. Chişinău) (oral).

MOLDOVAN CRISTINA, cercet. şt.; Conferinţa ştiinţifico-practică cu participare internaţională "Instruire prin cercetare pentru o societate prosperă": Ed. a XVIII-a; UST, Chişinău, Moldova, 20-21 martie 2021; Diversitatea micromicetelor din biofilme a bazinului acvatic „La izvor” din municipiul Chişinău (oral).

BÎRSA MAXIM, dr.biol.; Conferinţa ştiinţifico-practică cu participare internaţională "Instruire prin cercetare pentru o societate prosperă": Ed. a XVIII-a; UST, Chişinău, Moldova, 20-21 martie 2021; Разнообразие представителей класса *Actinobacteria* в водной толще озерной системы «La izvor» (oral).

SÎRBU, T., dr. biol.; Conferinţa ştiinţifico-practică cu participare internaţională "Instruire prin cercetare pentru o societate prosperă" Ed. a XVIII-a; UST, Chişinău, Moldova, 20-21 martie 2021; Modificările micromicetelor după o perioadă îndelungată de conservare (oral).

BOGDAN, N., dr. biol.; Conferinţa ştiinţifică naţională cu participare internaţională "Integrare prin cercetare şi inovare"; USM, Chişinău, Moldova, 10-11 noiembrie 2021; Studiarea bacteriilor izolate din namolul lacurilor parcului La izvor (oral).

SÎRBU, T., dr.biol.; Conferinţa ştiinţifică naţională cu participare internaţională "Integrare prin cercetare şi inovare"; USM, Chişinău, Moldova, 10-11 noiembrie 2021; Acţiunea mediilor de rehidratare în baza nanoparticulelor asupra viabilităţii micromicetelor liofilizate (oral).

### 13. Aprecieria şi recunoaşterea rezultatelor obţinute în proiect (premiu, medalii, titluri, alte aprecieri).

SÎRBU, T.; TIMUŞ, I.; GORINCIOI V.; MOLDOVAN C.; ȚURCAN O.; BÎRSA M.; Medalie de argint; *Salonului „Cadet INOVA” Cercetări şi inovații în viziunea tinerilor cercetători*, 15-17 aprilie 2021, Sibiu, România.

SÎRBU, T.; TIMUŞ, I.; GORINCIOI V.; MOLDOVAN C.; ȚURCAN O.; BÎRSA M.; Medalie de aur; *Salonul Euroinvent*, ed. 13 –a., 22 mai 2021, Iași, România.

SÎRBU T.; TIMUŞ I.; GORINCIOI V.; MOLDOVAN C.; ȚURCAN O.; BÎRSA, M.; Medalie de argint; *Salonul Euroinvent*, ed. 13 –a., 22 mai 2021, Iași, România.

SÎRBU, T.; TIMUŞ, I.; GORINCIOI V.; MOLDOVAN C.; ȚURCAN O.; BÎRSA M.; Medalie de argint; *Salonul International Inventica*, ed 25-a.23-25 iunie, 2021, Iași, România.

SÎRBU, T.; TIMUŞ, I.; GORINCIOI, V.; MOLDOVAN, C.; BOGDAN, N.; ȚURCAN, O.; Medalie de bronz; *Salonul internațional „Inovări și Inventici” PRO INVENT*, ediția a XIX-a, 20 – 22 octombrie 2021, Cluj-Napoca, România.

SÎRBU, T.; TIMUŞ, I.; GORINCIOI, V.; MOLDOVAN, C.; ȚURCAN, O.; BOGDAN, N.; *Salonul Internațional Infoinvent*, 17-20 noiembrie, Chişinău, Moldova.

SÎRBU, T.; TIMUŞ, I.; GORINCIOI, V.; MOLDOVAN, C.; ȚURCAN, O.; *Salonul Internațional Infoinvent*, 17-20 noiembrie, Chişinău, Moldova.

Secretarul științific



(semnătura)

**14. Promovarea rezultatelor cercetărilor obținute în proiect în mass-media (Opțional):**

- Emisiuni radio/TV de popularizare a științei- n-am participat
- Articole de popularizare a științei - nu au fost publicate

**15. Teze de doctorat / postdoctorat susținute și confirmate în anul 2021 de membrii echipei proiectului (Opțional)**

**16. Materializarea rezultatelor obținute în proiect (Opțional)**

Forme de materializare a rezultatelor cercetării în cadrul proiectului pot fi produse, utilaje și servicii noi, documente ale autorităților publice aprobate etc.

**17. Informație suplimentară referitor la activitățile membrilor echipei în anul 2021**

- Membru/președinte al comitetului organizatoric/științific, al comisiilor, consiliilor științifice de susținere a tezelor (Opțional)
- Redactor / membru al colegiilor de redacție al revistelor naționale / internaționale (Opțional)

**18. Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în proiect**

**Rezumat**

Păstrarea durabilă și eficientă a microorganismelor depinde de selectarea corectă a metodei de conservare. Actualmente sunt cunoscute diverse metode de conservare, dintre care liofilizarea este considerată a fi o metodă optimală pentru cele mai diverse grupuri de microorganisme. Pe parcursul liofilizării, microorganismele sunt expuse la o serie de factori stresanți (temperaturi joase și uscure în vid), care duc la moartea celulelor, de aceea este necesară evaluarea periodică a viabilității și stabilității acestora.

Evaluarea viabilității și stabilității a 17 tulpini de drojdii din Colecția Națională de Microorganisme Neptogene (CNMN), ce aparțin genurilor *Rhodotorula*, *Sacharomyces*, *Lipomyces*, după 15 ani de conservare a demonstrat că, indiferent de metoda de păstrare și mediul lioprotector utilizat la liofilizare, tulpinile studiate sunt viabile și și-au păstrat proprietățile morfo-culturale inițiale. Pe parcursul a 15 ani de conservare în stare liofilizată viabilitatea acestora a scăzut cu 2 unități de la  $10^4$  până la  $10^2$  și constituie în prezent 46,4 - 77,8%, comparativ cu viabilitatea la momentul liofilizării. S-a stabilit că, pentru revitalizarea și restabilirea proprietăților morfo-culturale inițiale ale culturilor păstrate sub ulei mineral este necesar de a efectua inițial inocularea lor în tuburi cu mediul malț lichid, apoi transferarea pe mediu agarizat cu efectuarea a 3 pasaje consecutive.

Viabilitatea a 12 tulpini noi de actinobacterii din genul *Streptomyces*, depozitate recent în CNMN, după liofilizare, în prezența mediului lioprotector (gelatin 2.5 % + glucoza 7.5 %) și regimului de congelare  $-50^{\circ}\text{C}$ , variază în limitele 87,6-98,0%.

Au fost efectuate studii de determinare a capacității antimicrobiene (antifungice, antibacteriene) și enzimactice (amilaza, catalaza, lipaza, celuloza) a noilor tulpini izolate din bazinul acvatic „La Izvor”: 70 tulpini de actinobacterii, 65 tulpini de bacterii, 26 tulpini de cianobacterii și microalge, 93 tulpini de fungi. În cercetare, pentru determinarea activității

antimicrobiene, s-au utilizat 10 culturi de referință (fitopatogeni): *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Corynebacterium michiganense*, *Erwinia carotovora*, *Xanthomonas campestris*, și 2 culturi de patogeni: *Escherichia coli* ATCC® 25922™ și *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923™.

În rezultatul testării noilor tulpini izolate din bazinul acvatic „La Izvor”, după capacitatea antimicrobiană și enzimatică, s-a stabilit că, cele mai active sunt tulpinile de actinobacterii, și fungi izolate din nămol și cianobacteriile și bacteriile izolate din apă și biofilm.

Au fost depistate tulpini (actinobacterii, bacterii, cianobacterii, fungi) ce posedă activitate antimicrobiană semnificativă (diametrul zonelor de inhibiție a fitopatogenilor fiind de 25-40 mm), cât și activitate amilolitică, catalazică, celulazică și lipazică medie (++) , iar la unele înaltă (+++). În rezultatul cercetărilor au fost selectate, pentru cercetări ulterioare, cele mai active tulpini ce posedă atât activitate antimicrobiană, cât și enzimatică semnificativă: 12 tulpini de actinobacterii, 12 tulpini de bacterii, 7 tulpini de cianobacterii și 1 tulpină de microalge (*Chlorella*), 12 tulpini de fungi. Aceste tulpini completează CNMN cu noi tulpini de microorganisme de interes biotehnologic.

#### **Abstract**

The efficient storage of microorganisms depends on the correct selection of preservation method. Different storage methods are currently known, and lyophilization is considered to be an optimal method for diverse groups of microorganisms. During lyophilization microorganisms are exposed to a number of stressors (low temperatures and vacuum drying), which lead to cell death. That's why it is necessary to evaluate periodically their viability and stability.

After 15 years of conservation the viability and stability evaluation of 17 yeast strains genera *Rhodotorula*, *Sacharomyces*, *Lipomyces* from the National Collection of Non-Pathogenic Microorganisms (CNMN) showed that they are viable and save its morpho-cultural properties regardless of storage method and the lyoprotective medium, During 15 years of storage in lyophilized state, their viability decreased by 2 units from  $10^4$  to  $10^2$  and currently constitutes 46.4 - 77.8%, compared to the viability after lyophilization. It was determined that to restore the initial morpho-cultural strain properties, it is necessary to inoculate them in tubes with liquid malt medium, then transferred to agarized medium in 3 consecutive passages.

The viability of 12 new actinobacteria strains of *Streptomyces* genus, recently stored in CNMN in lyoprotective medium (gelatin 2.5% + glucose 7.5%) and the freezing regime  $-50^{\circ}\text{C}$ , after lyophilization varies within limits 87.6-98,0%.

Studies have been carried out to determine the antimicrobial (antifungal, antibacterial) and enzymatic (amylase, catalase, lipase, cellulase) activity of strains from the “La Izvor” lake: 70 strains of actinobacteria, 65 bacteria strains, 26 strains of cyanobacteria and 93 fungal strains. In the research of antimicrobial activity were used 10 reference cultures (phytopathogens): *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Corynebacterium michiganense*, *Erwinia carotovora*, *Xanthomonas campestris* of 2 strains of pathogens:



*Escherichia coli* ATCC® 25922™ și *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923™ .

The new isolated strains from "La Izvor" lake were tested for antimicrobial and enzymatic activity. As a result of study were identified the most active strains: actinobacteria and fungi isolated from mud, cyanobacteria and bacteria isolated from water and biofilm.

Identified strains (actinobacteria, bacteria, cyanobacteria, fungi) showed significant antimicrobial activity (inhibition zone diameter is 25-40 mm), also amylase, catalase, cellulase and lipase activity at medium value (++) , to some high value (+++). The most active strains with antimicrobial and significant enzymatic activity were selected for further research: 12 strains of actinobacteria, 12 strains of bacteria, 7 cyanobacteria strains, one microalgae strain and 12 strains of fungi. They complete CNMN with new microorganisms of biotechnological interest.

#### 19. Recomandări, propuneri.

Rezultatele obținute în acest proiect au demonstrat că, tulpinile de drojdii din CNMN, cât și cele noi selectate sunt viabile, stabile și pot fi utilizate în biotehnologie pentru obținerea substanțelor bioactive, de asemenea pot fi utilizate în Instituțiile de cercetare, dar și în Instituțiile de învățământ mediu și superior în calitate de material didactic.

Conducătorul de proiect  Sirbu Tamara

Data: 15.01.2021






**Executarea devizului de cheltuieli, conform anexei nr. 2.3 din contractul de finanțare nr. 75PS din 04.01.2021 Cifrul proiectului: 20.80009.7007.09**

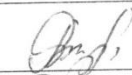
IP Institutul de Microbiologie și Biotehnologie

Cheltuieli, mii lei				
Denumirea	Cod		Anul de gestiune	
	Eco (k6)	Aprobat	Modificat +/-	Precizat
Remunerarea muncii angaj. conf. statelor	211180	591,2		591,2
Contribuții de asigurări sociale de stat obligatorii	212100	171,5	-1,5	170,0
Prime de asigurare obligatorii de asistenta medicala achitate de angajatori pe teritoriul tarii	212210		+1,5	1,5
Deplasări de serviciu peste hotare	222720	55		55
Servicii neatribuite altor aliniate	222990	6,0		6,0
Indemnizații pentru incapacitatea temporară de muncă achitate din mijloace financiare ale angajatorului	273500	5,3		5,3
Procurarea materialelor pentru scopuri didactice, științifice și alte procurări.	335110	60,0		60,0
Procurarea materialelor de uz gospodăresc și rechizitelor de birou	336110	10		10
<b>Total</b>		<b>899,0</b>		<b>899,0</b>


Director IP IMB

 Cepoi Liliana

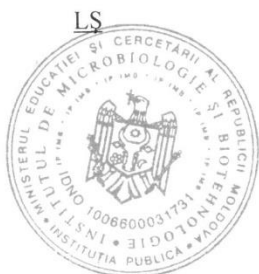
Contabil șef al IP IMB

 Puris Tatiana

Conducătorul de proiect

 Sirbu Tamara

Data: 15.11.2021



**Componenta echipei proiectului**

**Cifrul proiectului 20.80009.7007.09**

Echipa proiectului conform contractului de finanțare (la semnarea contractului)						
Nr	Nume, prenume (conform contractului de finanțare)	Anul nașterii	Titlul științific	Norma de muncă conform contractului	Data angajării	Data eliberării
1.	Sîrbu Tamara	1961	dr.st	0,75	04.01.2021	31.12.2021
2.	Burțeva Svetlana	1945	dr.hab	1,0	04.01.2021	31.12.2021
3.	Balan (Batîr) Ludmila	1985	dr.st	1,0	Concediul de maternitate Din 26.06.2021 Concediul de îngrijire a copilului	
4.	Bogdan Nina	1991	dr. șt.	1,0	01.07.2021	31.12.2021
5.	Bîrsa Maxim	1989	dr,șt	1,0	04.01.2021	31.12.2021
6.	Slanina Valerina	1954		1,0	04.01.2021	31.12.2021
7.	Țurcan Olga	1986		0,5	04.01.2021	31.12.2021
8.	Moldovan Cristina	1992		0,75	04.01.2021	31.12.2021
9.	Cebotari Victoria	1993		1,0	Concediul de îngrijire a copilului	
10.	Timuș Ion	1986		0,25	04.01.2021	31.12.2021

Ponderea tinerilor (%) din numărul total al executorilor conform contractului de finanțare	56,%
--	------

Modificări în componența echipei pe parcursul anului 2021					
Nr	Nume, prenume	Anul nașterii	Titlul științific	Norma de muncă conform contractului	Data angajării
1.	Balan (Batîr) Ludmila	1985	dr. șt	1,0	Din 26.06.2021 Concediul de îngrijire a copilului
2.	Bogdan Nina	1991	dr. șt.	1,0	01.07.2021

Conducătorul organizației *[Signature]* / **Cepoi Liliana**

Contabil șef *[Signature]* / **Puris Tatiana**

Conducătorul de proiect *[Signature]* / **Sîrbu Tamara**

Data: 15.11.2021

