

## Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în proiect în anul 2023

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

Conservarea și păstrarea proprietăților valoroase ale microorganismelor utilizate în biotehnologie este sarcina principală a Colecțiilor de microorganisme. Actinobacteriile sunt una dintre cele mai productive grupuri în ceea ce privește sinteza de substanțe bioactive: antibiotice, enzime, hormoni, vitamine, agenți antitumorali, vaccinuri, stimulatori de creștere, etc., care sunt utilizate în diferite domenii (medicină, agricultură, industria alimentară, etc.).

Evaluarea viabilității și stabilității a 9 tulpini de actinobacterii, reprezentanți ai genului *Streptomyces*, după 15 ani de păstrare în stare liofilizată în CNMN, a demonstrat o viabilitate înaltă ce variază în limitele 43,6-64,6 %. Cea mai mică viabilitate a fost înregistrată la tulpina *Streptomyces levoris* CNMN-Ac-16 (43.6%), iar cea mai mare viabilitate la tulpina *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-07 (64.6%). Proprietățile morfo-culturale ale tulpinilor de streptomicete, după 15 ani de conservare în formă liofilă, s-au schimbat în comparație cu descrierea lor înainte de liofilizare: dimensiunea coloniilor a scăzut la toate tulpinile cu 5,0-24,13%; marginea coloniilor s-a modificat la 3 tulpini; culoarea miceliului aerian s-a schimbat la 4 tulpini.

Au fost liofilizate 52 tulpini de microorganisme din diferite grupe taxonomice, ce posedă proprietăți valoroase: 12 tulpini de drojdii, 22 tulpini de bacterii, 10 tulpini de fungi și 8 tulpini de microalge și cianobacterii, ce aparțin diferitor genuri și posedă diferite proprietăți biosintetice. Astfel, viabilitatea tulpinilor de drojdii din genul *Saccharomyces*, după liofilizare variază în limitele 81,1 - 89,6%, iar a tulpinilor din genul *Rhodotorula* de peste 84%.

Viabilitatea celor 22 tulpini de bacterii după liofilizare a fost diferită. La unele viabilitatea variază în limitele 75,91 – 79,84%, iar la altele în limitele 85,17 – 93,08%. Cea mai înaltă viabilitate, care atinge valoarea de 93,08%, se atestă la tulpina *Bacillus velezensis*. Au fost liofilizate și 18 tulpini de bacterii lactice. Titrul celulelor viabile după liofilizare menținându-se la un nivel înalt ( $10^8$ ,  $10^9$  UFC/mL) cu păstrarea tuturor proprietăților valoroase inițiale.

Viabilitatea tulpinilor de fungi după liofilizare a constituit 77,1 - 93,3% față de viabilitatea de până la liofilizare. La toate tulpinile menționate după liofilizare nu au fost observate modificări semnificative ale proprietăților morfo-culturale. De asemenea pentru prima dată au fost liofilizate și 8 tulpini de microalge și cianobacterii (*Spirulina subtilissima*, *Nostoc punctiforme*, *Spirulina major*, *Oscillatoria planctonica*, *Scenedesmus quadricauda*, *Anabaena constricta*, *Chlorella vulgaris*, *Calothrix gracilis*) izolate din lacul La izvor. Au fost testate 2 medii de protecție: dimetilsulfoxidului (DMSO) și glicerol de 10% în raport 1:1 la 2 regimuri de congelare (-60°C și -20°C). 6 tulpini și-au restabilit creșterea timp de câteva săptămâni după liofilizare, iar 2 tulpini (*S. major* și *S. subtilissima*) nu au prezentat viabilitate după liofilizare, ce ne vorbește despre toxicitatea lioprotectorilor față de aceste culturi, cât și despre stresul produs în procesul de liofilizare. *Chlorella vulgaris* a tolerat cel mai bine liofilizarea.

A fost elaborat catalogul electronic „Microorganisme de interes industrial”, care include 300 tulpini de microorganisme: bacterii, fungi, drojdii, microalge și cianobacterii, depozitate în CNMN ca potențiali producători de substanțe bioactive. Microorganismele incluse în catalog conțin următoarea informație: cifrul CNMN; genul, specia; proveniența tulpinii; sursa izolării; numele depunătorului (lor); localitatea izolării sau obținerii culturii noi (țară, raion, sat, oraș); anul depozitării; mediul de cultivare; temperatura de cultivare).

Preservation of the valuable properties of microorganisms used in biotechnology is the main task of Microbial Collections. Actinobacteria are one of the most productive groups in terms of the synthesis of bioactive substances: antibiotics, enzymes, hormones, vitamins, antitumor agents, vaccines, growth stimulants etc., which are used in various fields (medicine, agriculture, food industry etc.). The evaluation of the viability and stability of 9 strains of actinobacteria, representatives of the genus *Streptomyces*, after 15 years of storage in a lyophilized state in the CNMN, demonstrated a high viability ranging from 43.6 to 64.6%. The lowest viability was recorded at the strain *Streptomyces levoris* CNMN-Ac-16 (43.6 %), and the highest viability at the strain *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-07 (64.6 %). The morpho-cultural properties of actinobacteria strains, after 15 years of preservation in lyophilized state, changed in comparison with their description before lyophilization: colony size decreased at all strains by 5.0 - 24.13%; the edge of the colonies changed at 3 strains; aerial mycelium color changed at 4 strains. 52 strains of microorganisms possessing valuable properties from different taxonomic groups were lyophilized: 12 strains of yeasts, 22 strains of bacteria, 10 - strains of fungi and 8 strains of microalgae and cyanobacteria, which belong to different genera and possess different biosynthetic properties. Thus, the viability of yeast strains from the *Saccharomyces* genus after lyophilization varies between 81.1-89.6%, and that of *Rhodotorula* strains over 84%. The viability of the 22 bacterial strains after lyophilization was different. At some the viability varies within the limits of 75.91 - 79.84%, and in others within the limits of 85.17 - 93.08%. The highest viability, which reaches the value of 93.08%, is found at the *Bacillus velezensis* strain. 18 strains of lactic acid bacteria were also lyophilized. Viable cell titer after lyophilization maintained at a high level ( $10^8$ ,  $10^9$  CFU / mL) with retention of all valuable initial properties. The viability of the fungal strains after lyophilization was 77.1 - 93.3% in comparison with viability before lyophilization. No significant changes in morpho-cultural properties were observed at all mentioned strains after lyophilization. Also, for the first time, 8 strains of microalgae and cyanobacteria (*Spirulina subtilissima*, *Nostoc punctiforme*, *Spirulina major*, *Oscillatoria planctonica*, *Scenedesmus quadricauda*, *Anabaena constricta*, *Chlorella vulgaris*, *Calothrix gracilis*) isolated from La izvor lake were freeze-dried. 2 protection media were tested: dimethylsulfoxide (DMSO) and 10% glycerol in a 1:1 ratio at 2 freezing regimes (at -60°C and at -20°C). 6 of the studied strains restored their growth for several weeks after lyophilization, and 2 strains (*S. major* and *S. subtilissima*) did not show viability after lyophilization, which tells us about the toxicity of lyoprotectants towards these cultures, as well as about the stress produced in the lyophilization process. *Chlorella vulgaris* tolerated lyophilization best. The electronic catalog "Microorganisms of industrial interest" was developed, which includes 300 strains of microorganisms: bacteria, fungi, yeasts, microalgae and cyanobacteria, stored in the NCNM (National Collection of Nonpathogenic Microorganisms) as potential producers of bioactive substances. Microorganisms included in the catalog contain the following information: NCNM number; genus, species; origin of the strain; source of isolation; the name of the depositor(s); the locality of isolation or obtaining the new culture (country, district, village, city); year of storage; cultivation medium; cultivation temperature).

Conducătorul de proiect



(semnătură)

Dr. Tamara SÎRBU

(numele, prenumele)

Data: 10.01.2024

