

STUDIUL MICOMICETELOR IZOLATE DIN NĂMOLUL BAZINULUI ACVATIC „LA IZVOR”, MUNICIPIUL CHIȘINĂU

CZU: 582.28:574.5(478-25)

Cristina MOLDOVAN

*Școala Doctorală Științe Biologice, Geonomice, Chimice și Tehnologice,
Universitatea de Stat din Moldova*

STUDY OF MYCOMYCETES ISOLATED FROM THE BASIN "LA IZVOR" IN THE CHISINAU MUNICIPALITY

Fungi are among the least studied groups of aquatic microorganisms, so we studied the diversity of the micromycetes in the silt of the lake "La Izvor" which is located in the Chisinau city, Sculeanca district. Thus, following research, the most widespread genera proved to be the genus *Penicillium* and *Aspergillus*, and according to the level of catalase activity, the strains of the genus *Trichoderma* and *Mucor* proved to be more effective.

Keywords: *Micromycetes, mud, catalase, determination, methods, basin.*

Introducere. Fungii sunt adaptați la o gamă diversă de ecosisteme de apă dulce. În râuri curenții apei curgătoare oferă un mecanism pentru dispersarea în aval a propagulelor fungice. Grupul dominant de fungi din aceste habitate, hifomicetele acvatice, au conidii adaptate morfologic (tetraradiate și sigmoide) pentru atașarea la substraturile lor (așternut de frunze și resturi lemnoase din vegetația riverană) în apele curgătoare (Webster, 1959; Webster & Davey, 1984). În zonele umede de apă dulce și zonele litorale ale lacului, producția de macrofite acvatice emergente este adesea extrem de mare, rezultând din abundență de materialul vegetal, care intră în cele din urmă în bazinul acvatic. Materialul mort al acestor macrofite (lame de frunze, învelișuri și frunze) rămâne adesea la suprafață pentru perioade lungi de timp înainte de a se prăbuși la fundul bazinului și a forma sediment. Această materie vegetală este colonizată de fungi care sunt adaptați pentru a supraviețui la condițiile dure, care predomină în mediul dat (Kuehn și colab., 1998). Există o serie de alte ecosisteme de apă dulce în care fungii sunt prezenți și prezintă adaptări interesante, de ex. fungi aeroacvatice din iazurile împădurite, organisme zoosporice (*Chytridiomycota* și *Oomycota*) într-o varietate de habitate, inclusiv zonele pelagice ale lacurilor, și *Trichomyces* care locuiesc în prezența unei varietăți de insecte acvatice. În ciuda apariției binecunoscute a acestor grupe fungice, în habitatele acvatice, nu se știe practic nimic despre rolurile lor în procesele biogeochimice. În general, contribuțiile fungilor la ciclurile biogeochimice au fost substudiate în majoritatea ecosistemelor de apă dulce [2, 9].

Ciupercile microscopice sunt implicate activ în biodegradarea materialelor sintetice și polimeri naturali, iar direcția și intensitatea procesului de distrugere este determinată atât de compoziția materialului, cât și de caracteristicile fiziologice și biochimice ale unui anume fel de destructor [8].

Este cunoscut faptul că la ciupercile microscopice sistemul enzimatic este foarte activ și bine dezvoltat. Astfel, enzimele hidrolitice produse de acestea contribuie la diverse transformări chimice ale substraturilor complexe de origine atât naturală, cât și sintetică, care sunt adesea greu accesibile sau inaccesibile pentru alte microorganisme.

Activitatea distructivă a micromicetelor are o mare importanță în aplicarea acestora în domeniul microbiologiei. Stimularea nivelului de activitate distructivă a ciupercilor microscopice este deosebit de importantă în tehnologiile legate de reciclarea deșeurilor industriale și de mediu din cauza poluării [3,5]

Scopul cercetărilor a constat în studiul activității catalazei a micromicetelor izolate din nămolul bazinului avfatic „La Izvor”.

Materiale și metode. Studiul biodiversității micromicetelor acvatice a lacului „La Izvor” a fost efectuat conform metodelor clasice. Probele din nămol au fost prelevate din cele trei lacuri ale bazinului acvatic. Pentru izolarea și studierea micromicetelor s-au utilizat 5 medii specifice: agar nutritiv, Saburov, malț-agar, Czapek (pH 10, pH 5, pH 7), Raistrick. Inhibarea bacteriilor, în mediu de cultură, s-a efectuat cu soluție de levomicetină.

Coloniile de micromicete au fost izolate în cultură pură și studiate particularitățile morfo-culturale. Pentru a determina apartenența genului, toate culturile au fost examinate vizual, dar și la microscop. Identificarea apartenenței genurilor microorganismelor din probele prelevate s-a realizat cu ajutorul microscopelor optice (Lomo Mikmed – 2; B-292; Optica) utilizând mai multe determinatoare (S.V. Eremeeva, V. Bilai, M.A. Cursanov, E. Litfinov Blagoveshenskaya, L.R. Batra).

Activitatea catalazei a fost determinată conform metodelor expres, utilizând H_2O_2 . Pentru aceasta, cu ajutorul unui ac de inoculare, s-a colectat o colonie, bine crescută pe mediul agarizat, și s-a transferat pe o lamelă de sticlă. Deasupra coloniei s-a adăugat 1-2 picături de H_2O_2 de 3%. Prezența bulelor de gaze apărute pe suprafața coloniei indică că cultura dată elimină catalază [1].

Rezultate și discuții. În urma cercetărilor efectuate, s-a demonstrat că în bazinul acvatic „La Izvor” conviețuiesc o gamă foarte largă de fungi miceliali ce aparțin diferitelor genuri, reprezentate de diverse specii. Au fost izolate și studiate în total 247 de tulpini de fungi miceliali. Toate tulpinile selectate se deosebesc între ele după particularitățile morfoculturale, deci aparțin la diferite genuri, care la rândul lor sunt reprezentate de diferite specii. Numărul izolatelor în funcție de locul aflării a fost diferit. Astfel, majoritatea izolatelor s-au găsit în probele din nămol. Au fost izolate 87 de tulpini. În urma examinării particularităților morfoculturale, atât vizual cât și la microscop au fost determinate 18 genuri: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Botrytis*, *Monilia*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Acremonium*, *Cladosporeum*, *Trichocladium*, *Phoma*, *Chaetomium*, *Stachybotrys*, *Arthrimum*, *Ulocladium*. O parte din izolații însă nu au fost identificați, deoarece pentru aceasta sunt necesare cercetări biochimice și genetice, care urmează a fi efectuate în viitor.

După numărul de izolații ce aparțin aceluiași gen și irul de micromicete depistate în probele prelevate din nămolul lacului „La Izvor” arată în felul următor: *Aspergillus*, *Penicillium* → *Alternaria* → *Trichoderma*, *Fusarium* → *Acremonium* → *Mucor*, *Rhizopus*, *Botrytis*, *Monilia* → *Talaromyces*, *Chaetomium*, *Stachybotrys*, *Arthrimum*, *Cladosporeum*, *Phoma*, *Trichocladium*, *Ulocladium*.

Astfel, s-a stabilit că în nămolul lacului predomină micromicetele ce aparțin genului *Aspergillus* și *Penicillium*, urmat de reprezentanți ai genului *Alternaria*, iar celelalte genuri sunt reprezentate într-un număr mult mai mic.

După cum este demonstrat în literatura de specialitate, micromicetele posedă proprietăți enzimatiche foarte bine dezvoltate. Eliminând în mediul înconjurător enzime, contribuie la descompunerea substanțelor organice și chimice ce se găsesc în bazinul acvatic.

Una din enzimele produse de către micromicete este catalaza. Catalaza este una dintre principalele enzime antioxidant primar al sistemului de apărare, care catalizează descompunerea peroxidului de hidrogen în apă și oxigen. Ea și-a găsit aplicația în diverse procese biotehnologice. Această enzimă se aplică în cercetarea științifică, în monitorizarea mediului, în biosenzorizare, tehnologii de determinare a peroxidului de hidrogen și a numărului de etanol pe care îl conține [10-12].

La prima etapă noi am testat tulpinile de micromicete ce predomină în probele prelevate (reprezentanți ai genurilor: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Trichoderma*, *Fusarium*) după activitatea catalazei.

Rezultatele experimentale privind activitatea catalazei micromicetelor izolate din nămolul lacului „La Izvor” sunt prezentate în Figură.

Astfel, s-a demonstrat că din numărul total de micromicete studiate cele mai active s-au dovedit a fi micromicetele din genul *Penicillium*. Din opt tulpini de *Penicillium* testate la cinci a fost înregistrată o activitate semnificativă a catalazei, iar tulpinile ce aparțin genului *Aspergillus* nu sunt atât de active, din șase tulpini testate o activitate nesemnificativă a catalazei a fost înregistrată la patru tulpini. Din genul *Trichoderma* s-au examinat cinci tulpini dintre care trei au manifestat activitate sporită a catalazei, iar cele trei tulpini din genul *Mucor* testate toate au manifestat activitate catalazică sporită. De asemenea, la ambele din cele două tulpini din genul *Rizopus* testate a fost înregistrată activitate catalazică. Din trei tulpini ale genului *Fusarium*, activitate catalazică a fost înregistrată numai la două tulpini, iar la cele șase tulpini testate din genul *Alternaria* activitatea catalazei a fost nesemnificativă comparativ cu celelalte tulpini de micromicete testate.

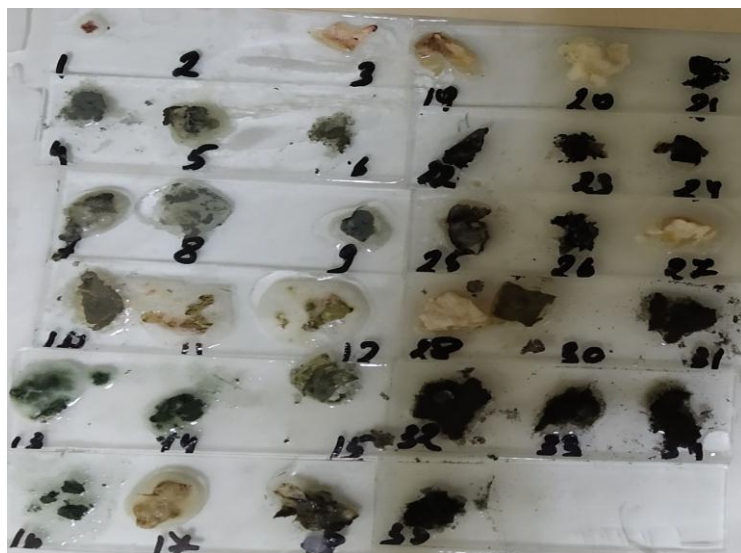


Fig.1. Activitatea catalazei la micromicetele prelevate din probele de nămol ale lacului „La Izvor”. (Tulpini din genul: nr.1-81 – *Penicillium*, nr.9-13 – *Trichoderma*, nr.14-16 – *Mucor*, nr.17-18 – *Rizopus*, nr.19-21 – *Fusarium*, nr.22 – *Talaromyces*, nr.23-28 – *Aspergillus*, nr.30-35 – *Alternaria*)

Astfel, putem concludiona că majoritatea micromicetelor testate posedă activitate catalazică, mai semnificativ manifestându-se această activitate la reprezentanții genurilor *Penicilliu*, *Trichoderma* și *Mucor*, ceea ce e în concordanță cu datele din literatura de specialitate în care se menționează că tulpinile de micromicete din genurile *Penicillium*, *Trihoderma* și *Mucor* sunt cele mai active privind activitatea catalazei [13,14].

Concluzii. Rezultatele obținute în cercetările efectuate au demonstrat că în nămolul lacului „La Izvor” conviețuiesc o gamă largă de micromicete reprezentanți ai diferitelor genuri. Predomină însă reprezentanții genurilor *Aspergillus*, *Penicillium* și *Alternaria*.

Scringingul efectuat privitor la activitatea catalazei a demonstrat că majoritatea micromicetelor posedă activitate catalazică. Activitate sporită a catalazei au manifestat reprezentanții genurilor *Penicillium*, *Trichoderma* și *Mucor*.

Referințe:

1. CHELIKANI, P., FITA, I., LOEWEN, P.C. Diversity of structures and properties among catalases. In: *Cellular and Molecular Life Sciences*, ianuarie 2004, 61 (2): 192-208.
2. GULIS, V., KUEHN, K. and SUBERKROPP, K. *The role of fungi in carbon and nitrogen cycles in freshwater ecosystems*. Cambridge University Press year: 2006, pp. 404-435.
3. ORTIZ-VERA, M.P., OLCZHANESKI, L.R. et al. *Influence of water quality on diversity and composition of fungal communities in a tropical river*. Scientific Reports | (2018) 8:14799.
4. БИЛАЙ, В.И., ЭЛЛАНСКАЯ, И.А., КИРИЛЕНКО, Т.С. и др. *Микромицеты почв*. Киев: Наук. думка, 1984.
5. БЛАГОВЕЩЕНСКАЯ, Е.Ю. *Фитопатогенные микромицеты: Учебный определитель*. Москва, 2015.
6. КИРИЛЕНКО, Т.С. *Атлас родов почвенных грибов*. Киев: Наукова думка, 1977.
7. ЕРЕМЕЕВА, С.В. *Плесневые грибы. Методы выделения, идентификации, хранения*. Астрахань, 2008.
8. СТРУЧКОВА, Е.С. ЛАЗАРЕВА, В.Ф. Амилазная и оксидоредуктазная активность микодеструктора *Aspergillus terreus* при его росте на новых полимерных материалах 2010 г. И.В. Смирнов. В: *Физико-химическая биология*. Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского, 2010, № 2 (2), сс. 591-595.
9. ЧЕРНЯКОВСКАЯ, Т.Ф., ВОРОНИН, Л.В. Распространение грибов-деструкторов растительных субстратов в эвтрофирующемся водоеме. В: *Ярославский педагогический вестник*. 2013, № 4, Том III (Естественные науки), сс.161-165.
10. SÎRBU, T. *Tulpina de micromicete Penicillium funiculosum – sursă de catalază*. Brevet de invenție MD 4059. BOPI, №7, 2010, p.25.
11. GLORIEUXA, Ch., CALDERON, P.B. Catalase, a remarkable enzyme: targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. In: *Biol. Chem.* 2017; 398(10): 1095-1108. DOI 10.1515/hsz-2017-0131.
12. МИХАЙЛОВА, Р.В., МОРОЗ, И.В., ЛОБАНОК, А.Г., РАДУКАН, А. Влияние этанола на образование внеклеточной и клеточно-связанной каталаз *Penicillium piceum* БИМ F-371 Д. Весці Нацыянальнай Акадэміі Навук Беларусі. *Серыя Біялагічных навук*, 2013, №1, сс. 43-47.

13. КУРАКОВ, А.В., КУПЛЕТСКАЯ, М.Б., СКРЫННИКОВА, Е.В., СОМОВА, Н.Г. Поиск микромицетов - продуцентов внеклеточной каталазы и изучение условий ее синтеза В: *Прикладная биохимия и микробиология*, 2001, том 37, №1, сс. 67-72.
14. КАПЧОН, А.П., БЛАЙ, Т.І., ЗАХАРЧЕНКО, В.О. и др. *Штам гриба rhizopus cohnii berl ef de toni продуцент ліпази з каталазною активністю*. Українаб Патенту: 2393, 1994.

Cercetările date au fost efectuate în cadrul Proiectului nr. 20.80009.7007.09 cu suportul ANACD.