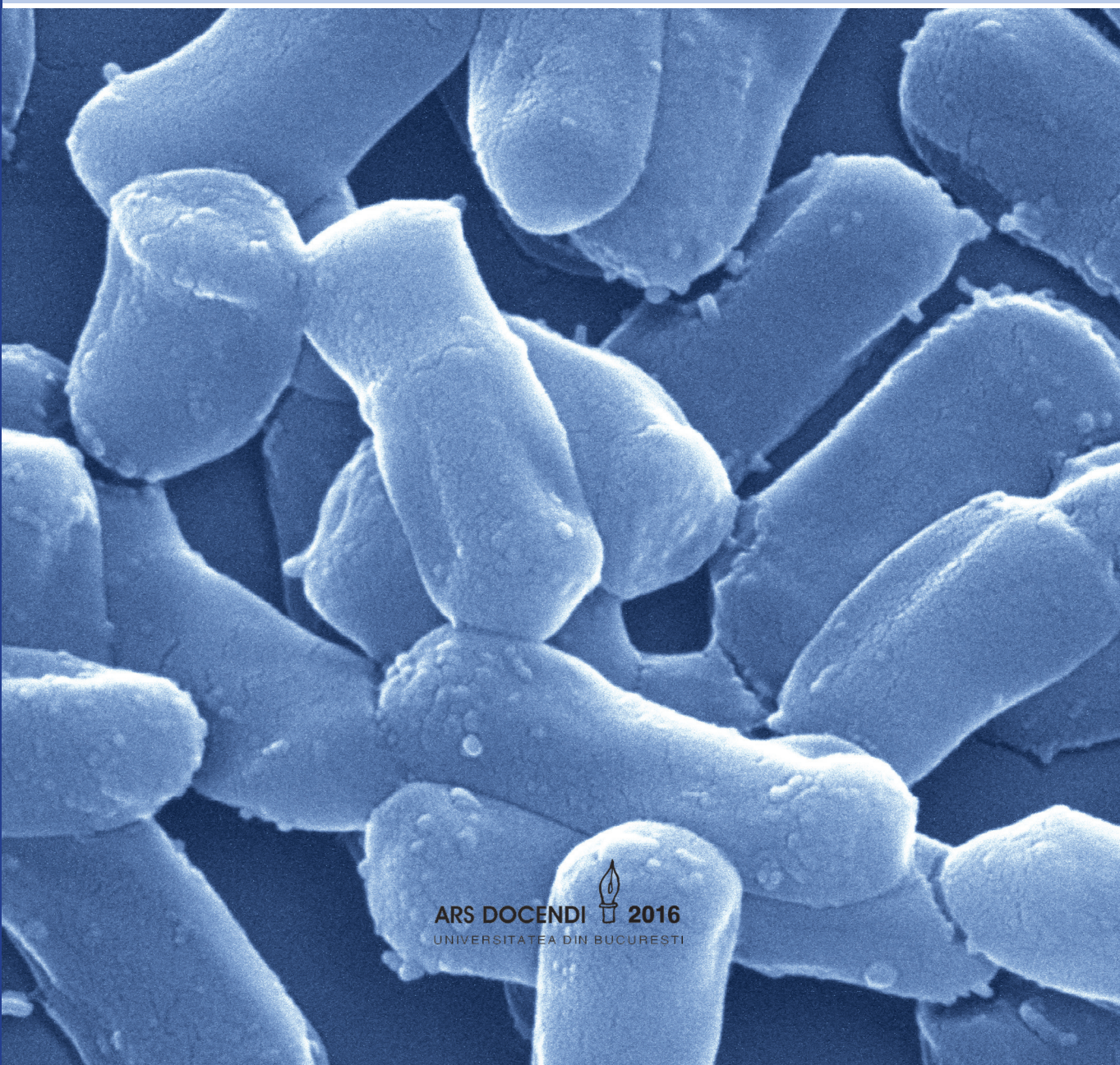




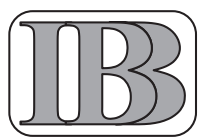
ACADEMIA ROMÂNĂ
Institutul de Biologie București
Departamentul de Microbiologie

A-56-A SEȘIUNE ANUALĂ DE COMUNICĂRI ȘTIINȚIFICE

85 ani de cercetare în domeniul microbiologiei



ARS DOCENDI  2016
UNIVERSITATEA DIN BUCUREȘTI



ACADEMIA ROMÂNĂ
Institutul de Biologie București
Departamentul de Microbiologie

A-56-A SESIUNE ANUALĂ DE COMUNICĂRI ȘTIINȚIFICE

85 ani de cercetare în domeniul microbiologiei

Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale a României
INSTITUTUL DE BIOLOGIE. Sesiune anuală de comunicări științifice (56 ; 2016 ; București)

85 de ani de cercetare în domeniul microbiologiei : a 56-a Sesiune anuală de comunicări științifice / Academia Română. Institutul de Biologie București. Departamentul de Microbiologie. - București : Ars Docendi, 2016

Conține bibliografie

ISBN 978-973-558-953-0

57(063)

Coperta I: *Lactobacillus helveticus* (imagine SEM) - prin amabilitatea dr. Medana Zamfir

Coperta IV: imagine TEM, cristale de sare, pe suprafața celulelor unei tulpini de bacterie moderat halofilă - prin amabilitatea drd. Roxana Cojoc

Editori: M. Enache, R. Cojoc, S. Neagu, M. Constantin

Tehnoredactare și copertă: M. Constantin

Comitetul Științific:

Acad. Octavian Popescu – Univ. Babeș-Bolyai, Cluj-Napoca

Dr. Dumitru Murariu – m.c. al Academiei Române, director IBB

Prof. dr. Veronica Lazăr – Univ. din București, Facultatea de Biologie

Prof. dr. Călina-Petruța Cornea – USAMV, Facultatea de Biotehnologii

Dr. Mădălin Enache – șef Departament Microbiologie, IBB

Prof. dr. Ioana Gomoiu – Univ. Națională de Arte, București

Prof. dr. Ioan Ardelean - IBB

Dr. Medana Zamfir - IBB

Dr. Cristina Purcărea – IBB

Dr. Anca Manole – secretar științific IBB

Copyright: Institutul de Biologie București

Tipărit la Institutul de Biologie București

Cuprins

Departamentul de microbiologie – bref (1929 – 2016) –	5
Mădălin Iancu Enache	8
Ioana Gomoiu	9
Ioan Ardelean	10
Medana Zamfir	11
Cristina Purcarea	12
Mugur Cristian Ștefănescu	13
Mihaela Marilena Stancu	15
Silvia Simona Grosu-Tudor	16
Gabriela Teodosiu	17
Carmen Mădălina Cismașiu	18
Doina Maria Cîrstea	21
Marian Constantin	22
Elena-Simona Neagu	23
Lucia Roxana Cojoc	24
Iulia Roxana Ștefan	25
Emanoil Teodoresco și descrierea genului <i>Dunaliella</i> (1905): ce am aflat de atunci încoace despre cel mai răspândit gen de alge extrem de halotolerante <i>Aharon Oren</i>	26
Emanoil Teodoresco and the description of <i>Dunaliella</i> (1905): what have we learned since about the most abundant genus of extremely halotolerant algae? <i>Aharon Oren</i>	30
Microbiota intestinală normală – prieten sau dușman? <i>Veronica Lazăr</i>	33
Rezistența la antibiotice: cauze, consecințe și strategii de combatere <i>Mariana Carmen Chifiriuc</i>	36
Procese biocatalitice în valorificarea biomasei – aportul enzimelor de tip lipază și peroxidază în producerea bio-materialelor <i>Mădălina Tudorache</i>	38
Un an de studiu integrat al vieții microscopice din Lacul Ursu (Sovata, România) <i>Baricz Andreea, Battes Karina Paula, Cîmpean Mirela, Andrei Adrian-Ștefan, Chiriac Cecilia, Levei Erika-Andreea, Momeu Laura, Cristea Adorján, Pop Diana Alexandra, Alexe Mircea, Muntean Vasile și <u>Horia Leonard Banciu</u></i>	41
Selectarea unor noi tulpini funcționale de bacterii lactice izolate din materiale vegetale, cu aplicații în biotehnologiile alimentare <i>Medana Zamfir, Silvia-Simona Grosu-Tudor, Iulia-Roxana Ștefan, Mihaela-Marilena Stancu, Călina-Petruța Cornea, Diana Pelinescu</i>	46
Biominerizarea la <i>Magnetospirillum grphyswaldense</i> și la <i>Synechocystis pcc 6803</i> : mecanisme biochimice, semnificație biologică și potențial bionanotehnologic <i>Ioan Ardelean și Cristina Moiescu</i>	47
Comunități microbiene din Peștera Ghețarul Scărișoara <i>Corina Ițcuș, Mădălina-Denisa Pascu, Alexandra Hillebrand-Voiculescu, Aurel Perșoiu, Traian Brad, Ioan Ardelean, Cristina Purcărea</i>	48
Izolarea și caracterizarea unei tulpini de <i>Serratia</i> <i>Mihaela Marilena Stancu</i>	49

Metode geostatistice pentru studiul diversității microbiene a stromatolitelor din Bahamas <i>Alexandru-Ionuț Petrișor</i>	50
Date preliminare privind rețeaua trofică microbiană din Lacul Sărat Letea (Delta Dunării) <i>Mirela Moldoveanu, Ioan Ardelean, Roxana Cojoc, Larisa Florescu, Ioana Lucaci, Simona Neagu, Mădălin Enache</i>	51
Construirea rețelei de interacțiuni între unele proteine implicate în angiogeneza neoplaziilor de faringe <i>Marian Constantin, Ligia Gabriela Gheșea</i>	52
Monitorizarea stării de conservare a biodiversității existente în diferite areale geografice ale României <i>Olivia Cioboiu, Carmen Mădălina Cismașiu, Ioan Păceșilă</i>	54
Diversitatea structurală și funcțională a bacteriilor acidofile din medii poluate în vederea recuperării unor metale din zonele afectate ale Câmpiei Olteniei <i>Carmen Mădălina Cismașiu, Nicolae Tomuș, Olivia Cioboiu</i>	56
Procedee combinate de reducere a conținutului de sulf anorganic din cărbune pentru utilizarea în aplicații de remediere a mediului înconjurător <i>Nicolae Tomuș, Carmen Mădălina Cismașiu, Ștefania Elena Deák</i>	58
Selectarea unor noi tulpini funcționale de bacterii lactice izolate din materiale vegetale, cu aplicații în biotehnologiile alimentare (PLANTLAB)	60
Cercetări inovative, multidisciplinare de investigare a efectelor probiotice ale unor noi tulpini de bacterii lactice și consorții (PROLAB)	64
Răspunsul la diferite condiții de stres al unor bacterii lactice cu aplicații bionanotehnologice	68
Biocatalizator cooperativ-dual pentru biorafinărie – oportunități și provocări pentru convertirea glicerolului rezidual la produși valoroși în industria polimerilor (BIOGLYCAT)	72
Elaborarea modelelor experimentale pentru studiul biopigmentării picturii murale: diagnostic, tratament, restaurare (EXMODBP)	76
Tehnici de refacere a aderenței suportului picturilor murale în frescă din bisericile de lemn. Contribuție la salvarea unui patrimoniu unic (studiu de caz și aplicații la monumente din județul Vâlcea (REABIL)	80
Biodiversitate și distribuție cronologică a microorganismelor în straturile de gheață perenă din Ghețarul Scărișoara (România)	86
Diversitatea și activitatea metabolică a microbiomului peșterilor de gheață ca răspuns la schimbările climatice și poluarea antropică (CAVICE)	87
Reziliența sistemelor hidrotermale față de perturbări antropice și naturale. Studiu de caz: zăcămintul termomineral sulfuros de la băile herculane (RESILTHERM)	89
Microorganisms in warming arctic environments (MICROARCTIC)	90
Brevete obținute de cercetătorii departamentului și aprecieri ale rezultatelor, prin diplome și medalii	91
Imagini cu personalul departamentului și evoluția laboratoarelor în timp	105

Departamentul de Microbiologie – bref (1929 – 2016) –

Actualul Departament de Microbiologie din cadrul Institutului de Biologie București al Academiei Române își are originea în Secția de Microbiologie și Micologie înființată și condusă de către acad. Traian Săvulescu în anul 1929 în cadrul Institutului de Cercetări Agricole al României. Secția menționată, a fost transferată în anul 1960 la Centrul de Cercetări Biologice și a fost integrată în cadrul Secției de Fitopatologie și Microbiologie generală aflată sub conducerea acad. Alice Săvulescu și care cuprindea trei laboratoare: virusologie și bacteriologie conduse de către acad. Alice Săvulescu și micologie, condus de dr. Vera Bontea, în sediul din Strada Docenților, care găzduiește, în prezent, Ambasada Pakistanului.

În această formă, secția și-a urmat activitatea și în cadrul reorganizării Centrului de Cercetări Biologice sub forma Institutul de Biologie "Traian Săvulescu" al Academiei Române. Din anul 1964, secția își continuă activitatea în spațiile alocate din noua clădire inaugurată în strada Splaiul Independenței nr. 296 din București, respectiv zonele de autoclavare, camere reci, preparare materiale și depozitare de reactivi aflate la subsolul clădirii, zona cu aparatura de cercetare de tipul gaz-cromatografie și altele aflate la parterul clădirii și zona de laboratoare și birouri care ocupă peste două treimi din etajul întâi al clădirii.

După anul 1972 tematica de cercetare a fost orientată spre probleme de microbiologie aplicată, respectiv microbiologie industrială, geomicrobiologie, biodeteriorarea materialelor și inginerie genetică microbială (fixarea azotului). În acest sens, în perioada respectivă a existat o colaborare foarte strânsă cu personalul didactic al Facultății de Biologie de la Universitatea din București, disciplina de microbiologie. În perioada 1973 – 1985 în cadrul laboratorului de microbiologie s-au dezvoltat foarte puternic domeniile microbiologiei petrolului și minereurilor, precum și cercetări de pionierat privind sursele neconvenționale de energie, bazate pe obținerea microbială a hidrogenului molecular și pe procesele de metanogeneză bacteriană.

În strânsă legătură cu cercetarea fundamentală finanțată prin intermediul Academiei Române, în cadrul laboratorului se dezvoltă cercetări orientate tematic, bazate pe experiența specialiștilor, cercetări solicitate de institutele de cercetare aplicativă și de către ministerele de resort. Astfel de studii includ: bioremedierea mediului poluat cu hidrocarburi, compuși fenolici, metale grele și azotați; recuperarea țițeiului remanent din medii poroase; solubilizarea metalelor din minereuri sărace și concentrate; biosorbția ionilor metalici din efluenți industriali; participarea microorganismelor la unele procese ce au loc în condiții extreme și/sau ostile de mediu.

În perioada 1978 – 1990, laboratorul a dezvoltat colaborări cu echipe de cercetare din Germania, Marea Britanie, Franța, S.U.A., R.D.G. și Rusia, pe bază de Protocol interguvernamental iar după anul 1991, în baza acordurilor de schimb interacademic, aria de colaborare este lărgită cu echipe din Austria, Suedia, Israel etc. În prezent, ast-

fel de acorduri de colaborare și proiecte internaționale se derulează în parteneriat cu echipe de cercetători din Belgia, Bulgaria, Cehia, Republica Moldova, Marea Britanie, Italia, Norvegia, Chile și Argentina.

Activitatea Departamentului de Microbiologie s-a impus în perioada de după 1990 prin proiectele de cercetare în care acesta a fost implicat (de tipul Inco-COPERNICUS; suport financiar acordat de guvernul Italiei pentru procesele de reformă din România, burse NATO, burse post-doctorat etc.), dar și prin lucrările științifice publicate în reviste din fluxul principal de informație științifică. O lucrare de referință la nivel național realizată în cadrul departamentului în perioada 1981 – 1994 este *“Tratatul de microbiologie generală”*, în cinci volume, peste trei mii de pagini, autor fiind acad. G. Zarnea. În același context, în anul 2011, cu important suport logistic și financiar din partea departamentului a fost publicată o altă lucrare de referință, respectiv *Dicționar de microbiologie generală și biologie moleculară*, peste o mie trei sute de pagini, autori fiind acad. G. Zarnea și acad. O. Popescu. Pe de altă parte, au fost publicate lucrări științifice de referință în diferite domenii: microbiologia petrolului, cu referire la creșterea recuperării microbiene a țițeiului remanent din zăcăminte; microbiologia mineureurilor, cu referire la biosolubilizarea metalelor din minereuri sărace și concentrate refractare; obținerea hidrogenului pe cale microbiană; producerea de metaboliți de tipul biopolimerilor și biosurfactanților; biodeteriorarea materialelor, a monumentelor istorice cu importanță cultural-artistică; comunități microbiene din situsuri cu condiții extreme (termofile, halofile, acidofile) sau medii poluate cu hidrocarburi, compuși fenolici, metale grele.

Rezultatele obținute în cadrul Departamentului au fost apreciate de către Academia Română prin acordarea a peste 10 premii ale Secției de științe biologice, dintre care două pentru lucrările de referință menționate anterior.

Pregătirea și perfecționarea profesională a cercetătorilor din cadrul departamentului se realizează prin participarea la conferințe și manifestări științifice internaționale de specialitate sau diferite seminarii și sesiuni științifice naționale, stagiile de schimb inter-academic, colaborările cu echipe de cercetare din alte instituții (naționale și internaționale), studiile doctorale, burse post-doctorale.

Structura de personal din cadrul departamentului a fost determinată de contextul socio-economic traversat de Institutul de Biologie în cei aproape 60 ani de activitate, în prezent echipa de cercetători fiind formată din 18 specialiști între care un membru al Academiei Române, cinci cercetători științifici gradul I, patru cercetători științifici gradul II, doi cercetători științifici gradul III, trei cercetători științifici și trei asistenți cercetare științifică. Dintre aceștia, 14 dețin titlul științific de doctor iar patru se află în diferite etape ale pregătirii doctorale. În prezent, în cadrul Departamentului își desfășoară activitatea patru coordonatori de studii doctorale: acad. Octavian Popescu, dr. Cristina Purcărea, prof. dr. Doina Codreanu-Bălcescu și prof. dr. Ioan Ardelean.

Conducerea laboratorului a fost asigurată în perioada 1929 – 1970 de către acad. Traian Săvulescu și acad. Alice Săvulescu. Din anul 1970 și până în anul 2000 aceasta a fost preluată de către dr. Ioan Lazăr, iar din 2000 până în decembrie 2009 de către

dr. Lucia Dumitru. În perioada ianuarie 2010 – mai 2016, Departamentul de Microbiologie a fost condus de către acad. Octavian Popescu, iar din mai 2016 până în prezent conducerea este asigurată de dr. Mădălin Enache.



Referințe bibliografice:

Institute of Biology Bucharest, 1997. M. Falcă (Ed.), p. 33 – 36.

M. Enache, 2011. Institutul de Biologie București, la 50 ani de activitate, *in*: Revista Academica, Ed. Academiei Române, Nr. 3; martie, Anul XXI (245), p. 58-65.

I. Lazăr, S. Dobrotă, M. Ștefănescu, L. Săndulescu, P. Constantinescu, C. Moroșanu, N. Botea, O. Iliescu, 1991. Preliminary results of some recent MEOR field trials in Romania, *in*: Microbial enhancement of oil recovery – recent advances, E.C. Donaldson (Ed.), Elsevier Developments in Petroleum Science, 31, p. 365-386.

https://ro.wikipedia.org/wiki/Traian_S%C4%83vulescu

http://enciclopediaromaniei.ro/wiki/Alice_S%C4%83vulescu

<http://www.ibiol.ro/istoric.htm>



MĂDĂLIN IANCU ENACHE

Șef Departament Microbiologie - Cercetător științific gr. I, Institutul de Biologie București al Academiei Române

Absolvent al Facultății de Chimie, Univ. București, specializarea Biochimie tehnologică (1997); Master în Enzimologie Aplicată (1998); doctor în Biologie (2002); burasă postdoctorat la RIKEN, Japan Collection of Microorganisms (2004 – 2006); Expert achiziții și investiții publice (2012; 2014); Facultatea de Drept, Univ. Creștină “Dimitrie Cantemir” – dreptul mediului înconjurător (2014). Director adjunct la Institutul de Biologie București în perioada 2006 – 2008, Director general al IBB în perioada 2008 – 2012, membru al Consiliilor de Administrație (2006 – 2012) și Științific (2006 – prezent) ale IBB.

Experiență profesională: coordonator a 13 și participant în 8 proiecte de cercetare naționale, autor principal și coautor la 54 articole publicate în reviste din străinătate și din țară, editor la 9 cărți publicate în Editura Academiei Române și la alte edituri din țară, autor/coautor la 13 capitole în cărți publicate în străinătate și în țară, peste 80 de postere prezentate la conferințe științifice internaționale și naționale, organizator/coordonator a peste 20 conferințe/ acțiuni/ manifestări științifice cu caracter internațional și național, membru în 6 comisii de susținere a tezelor de doctorat (5 în România și 1 în Spania).

Competențe în: tehnici de microbiologie generală, microscopie, biochimie, biologie moleculară, legislație de mediu

Direcții de cercetare: microbiologie generală, diversitate și filogenie microorganisme halofile, ecologia arheelor halofile extreme, enzimologia microorganismelor, nanobiotehnologii



IOANA GOMOIU

Cercetător științific gr. I, Departamentul de Microbiologie, Institutul de Biologie București al Academiei Române; Profesor la Departamentul de Conservare și Restaurare, Facultatea de Istoria și Teoria Artei, Universitatea Națională de Arte, expert monumente istorice.

Licență în Biologie - Facultatea de Biologie, Universitatea din București (1972); Absolventă a cursului de specializare în Microbiologie – Universitatea din București (1973); Doctorat în științe biologice, specializarea microbiologie-micologie – Academia Română, Institutul de Biologie București (1984).

Experiență profesională: coordonator a 7 și participant în echipa a 6 proiecte de cercetare, naționale și internaționale, autor principal și coautor la 50 articole științifice publicate în reviste din străinătate și din țară, 3 cărți și 6 capitole de carte publicate la edituri din țară și din străinătate, prezentări orale (65) și sub formă de poster (62) la manifestări științifice cu caracter internațional și național. Evaluator național și internațional la selectarea proiectelor de cercetare științifică valoroase în domeniul biologiei și protecției patrimoniului cultural.

Competențe în: tehnici de microbiologie generală, micologie și microscopie.

Direcții de cercetare: • identificarea și izolarea fungilor în probe recoltate din diferite medii naturale și artificiale • diversitate și filogenie la fungii halofili • studiul fiziologiei fungilor, inclusiv capacitatea de a sintetiza lipaze, celulaze și xilanaze, rezistența fungilor la compuși toxici, inclusiv biocizi. • biosinteza shizofilanului de către *Schizophyllum commune* • astrobiologie (experiment pe stația spațială internațională) • enzimologia microorganismelor halofile, nanobiotehnologii.



IOAN ARDELEAN

Cercetător științific gr. I, Institutul de Biologie București al Academiei Române

Absolvent al Facultății de Biologie, Universitatea din București, specializarea Biologie (1981); An de specializare (1982- Biologie Medicală); doctor în Biologie (Institutul de Biologie -1997);

Experiență profesională: patru cărți în România, 13 capitole în cărți internaționale și două în cărți din România, 22 de lucrări științifice publicate în reviste cotate ISI, 31 lucrări științifice publicate în volumele (Proceedings) unor manifestări științifice internaționale; 6 granturi internaționale de mobilitate, 2 granturi internaționale de cercetare științifică; 11 granturi/proiecte naționale de cercetare științifică; Conducător de doctorat pentru 6 actuali doctori în biologie și 6 actuali doctoranzi.

Competențe în: microbiologie: izolare, selectare, cultivare și prezervare de procariote cu diferite proprietăți metabolice/bionanotehnologice specifice; cuantificarea numărului și activității metabolice a diferitelor tipuri de procariote.

Direcții de cercetare: microbiologia (adaptarea la stresul salin, la temperaturi scăzute, la prezența poluanților) și bio(nano)tehnologia (celule de biocombustie, biosenzori, producerea de hidrogen molecular, de nanoparticule, de lipide, bioremediere) cianobacteriilor și bacteriilor magnetotactice; calcul cu membrane = sisteme P.



MEDANA ZAMFIR

Cercetător științific gr. I, Departamentul de Microbiologie, Institutul de Biologie București al Academiei Române

Absolvent al Facultății de Chimie, Univ. București, specializarea Biochimie tehnologică (1994); Master în Enzimologie Aplicată (1995); doctor în Biologie, distincția Magna cum laude (2003); Premiul Academiei Române „Emil Racoviță” pentru un set de lucrări publicate în anul 2004. Secretar științific al Institutului de Biologie București în perioada 2006 – 2016, membru al Consiliilor de Administrație (2006 – 2016) și Științific (2006 – prezent) ale IBB.

Experiență profesională: coordonator a 10 și participant în echipa a 5 proiecte de cercetare, naționale și internaționale; autor principal și coautor la 54 articole publicate în reviste din străinătate și din țară; prezentări orale și postere la conferințe științifice internaționale și naționale; co-organizator al unor manifestări științifice cu caracter internațional și național; membru în 9 comisii de suținere a tezelor de doctorat; evaluator articole în reviste cotate ISI și al unor propuneri de proiecte în diferite programe ale Planului Național de Cercetare; membru al CNATDCU, Comisia de Biologie și Biochimie.

Competențe în: tehnici de microbiologie generală, microscopie, biochimie, biologie moleculară.

Direcții de cercetare: studiul bacteriilor lactice izolate din alimente fermentate; izolarea, purificarea și caracterizarea unor metaboliți cu aplicații bio- și nanotehnologice sintetizați de aceste bacterii (bacteriocine, exopolizaharide, strat S); studiul potențialului pro- și prebiotic al bacteriilor lactice; studiul modificărilor celulare și moleculare induse la bacteriile lactice în condiții de stres.



CRISTINA PURCAREA

Cercetător științific gr. I, Institutul de Biologie București al Academiei Române, Departamentul de Microbiologie

Absolventă a Facultății de Chimie, Institutul Politehnic București, specializarea Biochimie (1988); *Diplôme d'Etude Approfondie* în Enzimologie, Universitatea Paris XI, Franța (1991); Doctorat în Enzimologie, Universitatea Paris XI (1995); Cercetător Științific, Institutul de Biochimie București (1990-1993); Postdoctorand, Universitatea Vije, Bruxelles, Belgia (1995 – 1996); Cercetător asociat, Wayne State University School of Medicine, Detroit, USA (1997-2001 & 2003-2005); Manager de Proiect, Avidis SA, Clermont-Ferrand, Franța (2001-2002); Cercetător științific gradul III, Institutul de Biologie și patologie celulară “Nicolae Simionescu”, București (2005-2007); Cercetător științific gradul I, Institutul de Biologie București (2007-prezent)

Experiență profesională: Autor principal a 32 publicații în jurnale ISI și 3 capitole de carte, factor de impact cumulat IF 65.86. 350 citări, Indice Hirsch 12, Participări la conferințe cu prezentări orale (21) și postere (34); Coordonator, partener și membru în 20 de proiecte naționale și internaționale de cercetare; 26 de ani de experiență de cercetare dintre care 7 ani în Franța, 7 ani în USA și 1 an în Belgia. Premiu de Excelență al Guvernului României pentru Expediția Științifică Antarctica ROICE 2015 (2015); Premiul Academiei Române “Emil Racovita” (2014); Secretar Științific al Comisiei Naționale de Cercetări Antarctice (2015-2016); Membru CNATDCU Biologie și Biochimie (2011-2012); Membru în comisii ale tezelor de doctorat și abilitare; Membru în Comitetul de conducere al grupului “*Linking Antarctic Peninsula Science (LAPES)*” – Scientific Committee on Antarctic Research (SCAR); Lider științific în Expedițiile Antarctice ROICE 2015 și ROICE 2016.

Competențe în: tehnici de biochimie, microbiologie, biologie moleculară, cristalografie de raze X

Direcții de cercetare: microorganisme extremofile, diversitatea și filogenia bacteriilor și archaeelor hipertermofile și criofile din medii glaciale Antarctice, Arctice și alpine, caracterizarea structurală și funcțională a extremozimelor metabolismului pirimidinic, mecanisme de adaptare moleculară la temperaturi extreme, microbiota archaeana umană, utilizarea extremozimelor în nanotehnologii, microbiologie criminalistică.



MUGUR CRISTIAN ȘTEFĂNESCU

Cercetător științific gr. II în cadrul Departamentului de Microbiologie al Institutului de Biologie București.

Absolvent al Liceului "Gheorghe Lazăr" din București, promoția 1974.

Licențiat al Facultății de Biologie, Universitatea București, promoția 1980.

În anul 2000 mi s-a conferit titlului de Doctor în Biologie prin susținerea Tezei de doctorat intitulată: „*Mecanismele eliberării țițeiului remanent din medii poroase sub acțiunea bacteriilor*“, conducător științific Prof. asoc., CS I, Dr. Ioan Lazăr.

Am participat la cursuri de specialitate, obținând atestate de participare: în 1996 cursurile CEFOR-Centre de formation des enseignement dans le domaine des sciences de la vie, espace europeen de la diffusion des connaissances et de reflexions prospectives, disciplina Microbiologie, sub patronajul Fondation Europeene pour la Formation (TEMPUS-Phare) et avec le soutien du CNRS et de l'INSERM (France); 2001, „*Innovative Approaches to the On-Site Assessment and Remediation of Contaminated Sites*“, organizat la Praga (24 mai-2 iunie 2001), sub patronajul NATO - Advances Study Institute; curs de specializare: „*Training in polymerase chain reaction techniques*“ organizat de DEXTER România (18-22 februarie 2002).

Schimburi de experiență:

în luna mai 1990, timp de o săptămână, am participat, ca reprezentant al colectivului de cercetare al Institutului de Biologie București, alături de specialiști din Ministerul Petrolului, la Consfătuirea de lucru a Țărilor Europei de Est, care a avut loc la Moscova, în problema *recuperării țițeiului din zăcăminte, prin utilizarea metodelor microbiologice*, România deținând poziția de țară coordonatoare;

În luna iulie 1998 am participat la un schimb de experiență și documentare, timp de o săptămână, în Bulgaria, la Universitatea de Mine și Geologie, Departamentul Geo-ecologie, Sofia, Facultatea de Biologie a Universității Sofia - Catedra de Microbiologie și experimentul de teren de la Burgas, în cadrul Proiectului INCO-Copernicus, finanțat de Comunitatea Europeană.

Experiența profesională:

În intervalul 1980-1983 am desfășurat activitate didactică (profesor de Biologie) la Școala generală, clasele V-X, comuna Sinești, jud. Ialomița, conform Repartiției Guvernamentale.

Între anii 1983-1985, biolog, coordonator al Compartimentului *Floră spontană* la Întreprinderea PLAFAR, București.

Cu începere din anul 1985 și până în prezent am desfășurat activitate de cercetare științifică în cadrul Centrului de Microbiologie al Institutului de Biologie al Academi-

ei Române, ocupând pe rând funcțiile de biolog (1985-1991), biolog principal (1991-1992), cercetător științific (1992-1999), cercetător principal gradul III (1999-2007), iar din anul 2007 până în prezent, cercetător științific gradul II.

Competențe în: microbiologie și ecologie microbiană, metode taxonomice de identificare bacteriană, tehnologii microbiene de remediere a mediilor contaminate, microscopie.

Domeniile de cercetare abordate:

Studiul biologiei microorganismelor producătoare de substanțe biologice active (antibiotice, enzime, substanțe tensioactive);

Utilizarea unor conșorții și tulpini bacteriene în procese de simulare a migrării și eliberării țiteiului remanent din medii poroase; experimente de șantier de stimulare a producției de țitei a sondelor și creșterea recuperării țiteiului din zăcăminte;

Studiul unor comunități de microorganisme implicate în procesele de bioremediere a unor medii (soluri, șlamuri, ape freactice și reziduale) poluate cu produși biodegradabili de tipul hidrocarburilor reziduale, compușilor fenolici și ionilor metalici;

Bioremedierea mediilor poluate și reducerea contaminării cu metale grele și elemente radioactive din zona Mării Negre.

Studii asupra formării biofilmelor și coroziunii microbiene.

Abordări moleculare privind expresia unor gene implicate în sinteza unor metaboliți bacterieni cu potențiale aplicații biotehnologice.

Observații de microscopie electronică în scopul demonstrării versatilității structurale și metabolice a celulelor bacteriene sub influențastresului de contaminare.

Valorificarea rezultatelor cercetării

Am participat, în calitate de coordonator sau colaborator, la elaborarea a peste 40 de granturi/contracte/proiecte de excelență, naționale și internaționale.

Sunt autor și coautor a cca. 150 de lucrări științifice, capitole de carte și volume de specialitate, publicate în țară și în străinătate, pentru care am totalizat peste 160 de citări.

Am participat la peste 100 de manifestări științifice naționale și internaționale.

Dețin calitatea de coautor a două brevete de invenție și 3 certificate de inovație, cât și 2 medalii de bronz și una de aur la Saloane Internaționale de Inventică.



MIHAELA MARILENA STANCU

Cercetător științific gr. II, Institutul de Biologie București al Academiei Române

Absolventă a Facultății de Biologie, Universitatea București, specializarea Biologie medicală (1996); doctor în Biologie (2005); bursă FEBS, CSIC-Estacion Experimental del Zaidin, Granada, Spania (aprilie-iunie 2005); bursă EMBO University of Naples Federico II, Italia (septembrie-decembrie 2006); stagiul de cercetare științifică în cadrul Acordului de colaborare dintre Academia Română și Real Acadèmia de Doctors, University of Barcelona, Spania (iulie 2007, septembrie 2009); bursă CAREX summer school, European Commission FP7 Coordination Action, Pieve Tesino, Italia (iunie-iulie 2010).

Experiență profesională: coordonator a 8 și participant la 21 proiecte de cercetare naționale, autor principal și coautor la 90 articole publicate în reviste din străinătate și din țară, coautor la 1 capitol publicat în străinătate, peste 50 postere prezentate la conferințe științifice internaționale și naționale.

Competențe în: tehnici de microbiologie generală, microscopie, biologie moleculară, biochimie.

Direcții de cercetare: caracterizarea microbiologică a unor probe prelevate din situsuri poluate cu petrol și produse petroliere; izolarea și caracterizarea unor tulpini bacteriene hidrocarbon-oxidante; modificări induse la nivel celular și molecular de hidrocarburi la bacterii hidrocarbon-oxidante.



SILVIA SIMONA GROSU-TUDOR

Cercetator stiintific gr. II – Departamentul de Microbiologie, Institutul de Biologie București al Academiei Române

Absolvent al Facultății de Chimie, Univ. București, specializarea Biochimie tehnologică (2003); Master în Enzimologie Aplicată (2005); doctor în Biologie (2009); cercetări postdoctorale în cadrul unui proiect de cercetare postdoctorală finanțat de către Unitatea Executivă pentru Finanțarea Învățământului Superior a Cercetării, Dezvoltării și Inovării - UEFISCDI (2010-2012); acordarea premiului Academiei Române “Emanoil Racoviță” pentru un grup de 7 lucrări publicate în perioada 2011-2013 cu tema “Proprietăți funcționale ale unor bacterii lactice din alimente fermentate” (2015).

Experiență profesională: coordonator a 3 proiecte de cercetare naționale (proiect de cercetare pentru tineri doctoranzi – tip TD, proiect de cercetare postdoctorală – tip PD și Proiect de cercetare pentru stimularea constituirii de tinere echipe de cercetare independente – tip TE) și participant la 10 proiecte de cercetare (8 naționale și 2 internaționale), autor principal și coautor la 24 articole publicate în reviste din străinătate și din țară (14 articole au fost publicate în reviste cu factor de impact de până la 3,337), 33 de postere și 6 prezentări orale la conferințe științifice internaționale și naționale.

Competențe în: tehnici de microbiologie generală, microscopie, biochimie

Direcții de cercetare: studiul diversității bacteriilor lactice din alimente fermentate tradițional (iaurt, smântână, murături, etc.); izolarea, purificarea și caracterizarea metaboliților acestora (bacteriocine și exopolizaharide); studiul potențialului pro- și prebiotic al bacteriilor lactice; studiul modificărilor celulare și moleculare induse la bacteriile lactice în condiții de stres.



GABRIELA TEODOSIU

Cercetător științific gr. II, Institutul de Biologie București al Academiei Române

Absolventă a Facultății de Biologie, Universitatea București, specializarea Biologie Medicală (1995), doctor în Biologie (2005). Secretar al Consiliului Științific al Institutului de Biologie București (2007 – prezent). Membru al Consiliului de Administrație al IBB (2013 – 2016). Șef adjunct al Departamentului de Microbiologie (2012 – 2016).

Experiență profesională: Coordonator și participant în 32 proiecte de cercetare naționale și internaționale, autor principal și coautor la 54 de articole publicate în reviste din străinătate și din țară, autor / coautor la 10 capitole în cărți publicate în țară și în străinătate; autor principal și coautor la 132 lucrări prezentate în cadrul unor conferințe și simpozioane naționale și internaționale sub formă de comunicări orale sau postere. Coordonator al activității practice a unor masteranzi ai Facultăților de Biologie și Chimie, Universitatea din București.

Competențe în: tehnici de microbiologie generală, microscopie optică și electronică (TEM, SEM), biologie moleculară, spectrofotometrie de absorbție atomică; aplicații bionanotehnologice ale microorganismelor (producere de metaboliți, bioremediere).

Direcții de cercetare: biologia microorganismelor arheene extrem halofile prezente în habitate hipersaline: izolare, cultivare, caracterizare prin abordări de taxonomie polifazică, diversitate, aspecte de fiziologie legate de stresul salin, aplicații în bionanotehnologii (producere de exopolizaharide, pigmenți carotenoizi, izolarea și caracterizarea stratului S, enzime; rezistență la metale grele și reducerea concentrației acestora); cercetări privind bacteriile prezente în ape uzate și diferite medii poluate cu metale grele și compuși organici, precum și rolul acestora în epurarea mediilor poluate.



CARMEN MĂDĂLINA CISMAȘIU

Cercetător științific gr. III

Institutul de Biologie București al Academiei Române

Departamentul de Microbiologie

1. Studii:

1.1. Liceul "C.A. Rosetti", București în perioada septembrie 1983 - iunie 1987 obținând Diplomă de Bacalaureat;

1.2. Universitatea București, Facultatea de Biologie în perioada octombrie 1989 - iunie 1994 obținând Diplomă de Licență și în perioada octombrie 1994 - iunie 1995 obținând Diploma de Masterat în profilul Biologie în specialitatea Taxonomie;

1.3. Facultatea de Biologie, Pitești în septembrie 2001 obținând Diploma de Studii postuniversitare "Realizări și Perspective în Biologie";

1.4. Facultatea de Științe Agronomice și Medicină Veterinară, Timișoara în septembrie 2002 obținând Diploma de Studii postuniversitare "Organisme modificate genetic";

1.5. Universitatea de Vest „Vasile Goldiș” Arad în septembrie 2003 obținând Diplomă de Studii postuniversitare „Realizări și perspective în biologie”;

1.6. Academia Română, Institutul de Biologie București în noiembrie 2004 obținând Diplomă de Doctor în Biologie.

2. Experiența profesională:

2.1. Biodiversitatea microorganismelor care populează apele miniere acide;

2.2. Biosorbția, bioacumularea sau bioprecipitarea ionilor metalici din efluenți industriali;

2.3. Biosolubilizarea deșeurilor miniere din areale contaminate industrial;

2.4. Studiul dinamicii unor caracteristici fiziologice ale microorganismelor acidofile prezente în diferite medii miniere cu ioni metalici;

2.5. Bioremedierea mediilor poluate cu ioni metalici, sulfati și azotați/azotiți;

2.6. Biotehnologie de îndepărtare a ionilor metalici din ape galvanice;

2.7. Desulfurizarea cărbunilor în scopul reducerii emisiilor de SO₂ la arderea lor în termocentrale.

3. Brevet de invenție și medalii:

3.1. Bordeianu M., Stancu R., Sandu I., Popea F., Toniuc M., **Cismașiu C., 2005**, Méthode microbiologique pour l'enlèvement de métaux lourds des eaux résiduelles galvaniques – invenție înregistrată la OSIM cu nr. A/00280-30.03.2004 – brevet premiat cu 4 medalii: (1) Golden Medal at the Salon International des Inventions des Techniques et Produits Nouveaux, **Geneva**, for the invention titled, Méthode micro-

biologique pour l'enlèvement of métaux des eaux lourds résiduelles galvaniques» - Bordeianu M., Stancu R., Sandu I., Popea F., Toniuc M., **Cismasiu C.**, 2005; (2) Silver Medal in Salon Mondial de l'Innovation et la Recherche of Nouvelles Technologies, "EUREKA", **Brussels**, for the invention titled «Method microbologique des métaux durs d'Elimination des eaux résiduelles galvaniques - Bordeianu M., Stancu R., Sandu I., Popea F., Toniuc M., **Cismasiu C.** 2004; (3) Golden Medal at the World Exhibition of Innovation „ ZLATNA ARCA“ - **Zagreb**, for the invention titled „Microbiological method to remove heavy metals from galvanic waste waters“, Zagreb - Bordeianu M., Stancu R., Sandu I., Popea F., Toniuc M., **Cismasiu C.**, 2007; (4) Silver medal at World Exhibition of Inventions and New Technologies „INVENTIKA“ for the invention titled „Method microbologique removal of heavy metals from electroplating wastewater“, **România** - Bordeianu M., Stancu R., Sandu I., Popea F., Toniuc M., **Cismasiu C.**, 2007.

4. Expertiză profesională:

- 4.1. Metoda microbiologică de îndepărtare a metalelor grele din ape reziduale galvanice;
- 4.2. Procedee microbiologice de reducere a conținutului de SO₂ la arderea combustibililor fosili solizi în termocentrale;
- 4.3. Tehnologii de reducere a conținutului de SO₂ în vederea arderii cărbunelui în termocentrale.

5. Membru al asociațiilor profesionale:

- 5.1. Membru la Societatea Română de Biotehnologie și Bioinginerie;
- 5.2. Membru la Societatea Română de Biochimie și Biologie moleculară.

6. Experiența acumulată în programe și proiecte naționale:

- 6.1. Am participat la 9 contracte de cercetare științifică cu diverși parteneri din țară pe tematică diversă: identificare de bacterii acidofile, biosurfactanți, biosorbție, bioprecipitare, biosolubilizare având funcția de colaborator în perioada 1996-1999;
- 6.2. Am participat la 2 Granturi ANSTI cu tematică de bioprecipitare, rolul microorganismelor în formarea stratului fertil pe halde de steril având funcția de colaborator în perioada 1999-2000;
- 6.3. Am participat la 3 Granturi MCT pentru tineret cu tematică „Bacterii acidofile implicate în îndepărtarea ionilor metalici din medii naturale, biodegradarea produselor petroliere reziduale” având funcția de coordonator în perioada 2000-2002;
- 6.4. Am participat la 2 Programe PNCDI „Îndepărtarea ionilor Cu²⁺, Ni²⁺, Zn²⁺, Cr³⁺ și Cr⁶⁺ din ape reziduale galvanice prin biosorbție, bioacumulare și bioprecipitare” având funcția de colaborator în perioada 2002-2004, precum și 2003-2005;
- 6.5. Grant Academia Română cu tematică „Stimularea îndepărtării ionilor metalici din concentrate de pirită auriferă” având funcția de coordonator în perioada 2005 - 2006;

6.6. Program PNCDI - Program MATNANTECH "Noi componente și sisteme nanoelectromecanice pe baza de materiale polimere pentru actuatore și manipolatoare" având funcția de colaborator în perioada 2006-2008;

6.7. Proiect CEEX - Program MENER cu titlul „Tehnologie curată pentru desulfurizarea cărbunilor în scopul reducerii emisiilor de SO₂ la arderea lor în termocentrale” având funcția de coordonator în perioada 2005-2008.



DOINA MARIA CÎRSTEA

Cercetător științific gr. III, în cadrul Departamentului de Microbiologie, Institutul de Biologie București al Academiei Române

Absolventă a Facultății de Biologie, Universitatea București, promoția 2006; Master în Neurobiologie și Taxonomie (2008); doctor în Biologie (2013);

Experiență profesională:

În perioada 2006-2007 am desfășurat activitate didactică (profesor de Biologie) la Liceul Teoretic "Miguel de Cervantes", București.

Începând cu anul 2007 și până în prezent am desfășurat activitate de cercetare științifică în cadrul Centrului de Microbiologie al Institutului de Biologie al Academiei Române, ocupând funcțiile: Asistent de Cercetare Științifică (2007-2015), Cercetător Principal gr. III (2015-prezent).

Sunt autor și coautor a 14 lucrări științifice, publicate în țară și în străinătate
Am participat la peste 20 de manifestări științifice naționale și internaționale.

Competențe în: microbiologie generală, microscopie, biologie moleculară

Direcții de cercetare: microbiologie generală, diversitatea și taxonomia microorganismelor mediilor contaminate, studiul microorganismelor producătoare de biopolimeri.



MARIAN CONSTANTIN

Cercetător științific, Institutul de Biologie București al Academiei Române

Absolvent al Facultății de Geologie și Geofizică, Universitatea din București, specializarea Geologie Universitară (2001); Master în Genetică (2007); absolvent al Facultății de Biologie, Universitatea din București, specializarea Biologie (2010); doctor în Biologie (2016); bursă postdoctorat la ICUB (2016 – 2017).

Experiență profesională: participant într-un proiect de monitorizare națională, autor principal la 3 articole publicate în reviste din țară, autor și editor la o carte publicată în țară.

Competențe în: biologie moleculară, cercetări în teren, utilizarea programelor de grafică, de paginare și a unor programe de bioinformatică, preluarea și procesarea computerizată a imaginilor

Direcții de cercetare: angiogeneză tumorală, ecologie, botanică



ELENA-SIMONA NEAGU

Cercetător științific – Departamentul de Microbiologie, Institutul de Biologie București al Academiei Române

Absolventă a Facultății de Biologie, Universitatea din București, specializarea Biologie generală (2006); Master în Chimie Terapeutică, Universitatea din București (2009); doctorand în cadrul Școlii de Studii Avansate a Academiei Române (SCOSAR), domeniul Biologie.

Experiență profesională: participant la 12 proiecte de cercetare naționale (granturi, PNII, CEEEX, RELANSIN, programe CEEEX MENER); autor / coautor la 10 articole științifice în reviste românești și internaționale, cotate ISI sau indexate în baza de date, 50 prezentări sub formă de postere și 19 comunicări orale, prezentate la diferite conferințe și simpozioane; coautor al unui capitol de carte editat în Editura Academiei Române.

Direcții de cercetare: Microbiologie generală (bacterii halofile: izolare, cultivare, caracterizare fenotipică), Nanobiotehnologii, Biochimie (biosinteza, extracția, purificarea, caracterizarea enzimelor extracelulare ale microorganismelor halofile, imobilizare enzime, tehnici de separare electroforetică, spectrometrie de masă).



LUCIA ROXANA COJOC

Asistent de cercetare științifică în cadrul Departamentului de Microbiologie al Institutului de Biologie București al Academiei Române.

Absolventă a Facultății de Biologie din cadrul Universității “Alexandru Ioan Cuza” Iași (anul 2005), a cursurilor de Master în “Microbiologie și Biotehnologie” din cadrul Facultății de Biologie a Universității București (2007), în prezent studentă la doctorat în domeniul Biologie, în cadrul Școlii de Studii Avansate a Academiei Române.

Experiență profesională: Participant în echipa la 13 proiecte de cercetare (granturi ale Academiei Române, proiecte PNII, CEEX-RELANSIN, CEEX-MATNANTECH, CEEX-MENER), autor principal și coautor la 16 articole științifice publicate în reviste din țară și din străinătate, un capitol de carte publicat în străinătate și 36 lucrări prezentate sub formă de postere sau comunicări orale la manifestări științifice cu caracter internațional și național.

Competențe: microbiologie generală, biologie moleculară, tehnici de microscopie, biotehnologii microbiene.

Direcții de cercetare: biologia bacteriilor moderat halofile din habitate hipersaline din România, bionanotehnologii.



IULIA ROXANA ȘTEFAN

Asistent de Cercetare științifică – Departamentul de Microbiologie, Institutul de Biologie București al Academiei Române (2015 – prezent).

Absolventă a Facultății de Biotehnologii din cadrul Universității de Științe Agronomice și Medicină Veterinară București, profil Biotehnologii Medical – Veterinare (2013), Master în Biotehnologii Agricole (2015), doctorand în domeniul Biotehnologii (2015 – prezent).

Experiență profesională: autor principal sau coautor la 6 articole publicate în reviste de specialitate internaționale, participări la 4 conferințe internaționale cu 5 postere și o prezentare orală ca autor principal sau coautor, două vizite la Universitatea Liberă din Bruxelles, Belgia în cadrul schimburilor interacademice.

Competențe în: biotehnologii, microbiologie, biochimie, biologie moleculară.

Direcție de cercetare: identificarea și studiul la nivel celular și molecular a unor structuri și metaboliți cu potențial bio(nano)tehnologic - studiul bacteriilor lactice

EMANOIL TEODORESCO ȘI DESCRIEREA GENULUI *DUNALIELLA* (1905): CE AM AFLAT DE ATUNCI ÎNCOACE DESPRE CEL MAI RĂSPÂNDIT GEN DE ALGE EXTREM DE HALOTOLERANTE

AHARON OREN

Departamentul de Științe botanice și de mediu, Institutul de biologie Alexander Silberman,
Universitatea Ebraică din Ierusalim, Campus Edmond J. Safra, Ierusalim 91904, Israel
e-mail: aharon.oren@mail.huji.ac.il

Genul *Dunaliella* a fost descris în 1905 de Emanoil Teodoresco (Siminecea, Suceava, 1866 – București 1949 și membru al Academiei Române din 1945). Teodoresco a examinat probe de apă din Lacul Sărat de lângă Brăila, apă care avea o culoare roșie datorită prezenței abundente a unor alge unicelulare, flagelate, de culoare roșie. Apariția unor asemenea alge în ape hipersaline a fost descrisă pentru prima dată de Michel Félix Dunal în 1838 în bazinele de cristalizare a sării de lângă Montpellier în Franța. El le-a numit *Protococcus salinus* și *Haematococcus salinus* [1]. Mai târziu acest organism a primit alte denumiri precum *Chlamydomonas Dunalii* Cohn și *Monas Dunalii* Joly. Teodoresco a făcut un studiu taxonomic amănunțit al acestei alge, după care ea a fost clasificată într-un nou gen, *Dunaliella* Teod. cu două specii: cea mai mare *D. salina* și cea mai mică *D. viridis*, care nu acumulează pigment roșu. El a descris morfologia celulelor flagelate, pe care le-a numit zoospori, ciclul lor de viață, a cercetat dependența lor de salinitate și a descris umflarea celulelor când concentrația sării scade brusc [2,3].

În același timp în care Teodoresco a studiat probele din Lacul Sărat, Clara Hamburger (Breslau (Wroclaw) 1873 – Berkeley, CA 1945) a cercetat probe din bazinele de cristalizare din Cagliari în Sardinia. În timp ce își pregătea manuscrisul cu rezultatele studiilor a aflat de apariția primului articol al lui Teodoresco despre *Dunaliella*. Ea și-a publicat rezultatele cu câteva luni mai târziu, a recunoscut prioritatea descoperirilor lui Teodoresco, pe care le-a confirmat și le-a extins [4,5]. Teodoresco susținea că pigmentul roșu („hematocromul”, care azi se știe că e betacaroten) se află atât în citoplasmă cât și în singurul cloroplast („cromatofor”). Ea însă a afirmat că pigmentul se găsește numai în stratul extern al „protoplasmei”. Până la urmă s-a dovedit că niciunul din ei nu avea dreptate. În 1931 Baas-Becking [6] a demonstrat că granulele de betacaroten se află numai în cloroplast. Acest fapt a fost confirmat mai târziu cu ajutorul microscopiei electronice. Pentru a comemora cercetările deschizătoare de drumuri ale lui Teodoresco și Hamburger am publicat un studiu istoric despre cercetarea algelor din genul *Dunaliella* la o sută de ani după prima descriere a genului [7].

În prezent se cunosc circa 28 de specii care aparțin acestui gen, din care 23 trăiesc exclusiv în medii saline sau hipersaline. Două monografii au fost dedicate acestui grup interesant de organisme [8,9]. *Dunaliella* este modelul de studiu pentru osmoreglare, producție de pigmenți precum și cultivare în scop comercial, ca urmare a fost studiată mai intensiv ca oricare altă algă.

Dunaliella cu diversele ei specii e cea mai importantă sau chiar singura producătoare primară în ape unde concentrația de sare depășește 200g/l. Unele specii cresc chiar în soluții saturate de clorură de sodiu, creșterea are loc doar mai încet. În felul acesta înțelegerea biologiei *Dunaliellei* devine cheia înțelegerii ecologiei microbiene a tuturor lacurilor hipersaline și a bazinelor de cristalizare a sării [10]. Prin urmare, de când am început cercetarea microorganismelor hipersaline și a interacțiilor dintre ele în Marea Moartă și în bazinele de cristalizare de la Eilat, pe malul Mării Roșii, am depus un efort susținut pentru a clarifica rolul *Dunaliellei* în aceste ecosisteme.

Microorganismele care trăiesc în Marea Moartă sunt total dependente de activitatea fotosintetică a *Dunaliellei*. Din 1980, de când a început urmărirea sistematică a comunităților microbiene din Marea Moartă, au avut loc două episoade de activitate intensivă a comunităților heterotrofe de archaea halofile, primul în 1980-1982 iar al doilea în 1992-1995. În ambele cazuri dezvoltarea acestor populații de archaea a fost precedată de înmulțirea masivă a unei specii de *Dunaliella* de culoare verde identificată ca *D. parva* [11,12]. În prezent Marea Moartă are o concentrație de totală de cca. 350 g de săruri dizolvate pe litru, inclusiv cantități mari de ioni de magneziu și calciu și ca atare nu permite creșterea nici măcar a organismelor fototrofe celor mai bine adaptate la concentrații ridicate de sare. Însă ploile torențiale diluează stratul superficial de apă iar aluviunile aduc fosfat, care în mod normal este factorul care limitează creșterea microorganismelor în lac. Ploile torențiale au avut ca urmare dezvoltarea unor populații dense de *Dunaliella* în 1980 și în 1992. Acestea au produs substanțele organice care au permis creșterea de archaea. Glicerina este o substanță-cheie care leagă metabolismul heterotrofelor de cel al algelor pentru că *Dunaliella* acumulează concentrații mari de glicerină într-un mecanism de stabilizare osmotică descoperit în anii 1960-1970 [13,14]. Într-un articol recent am prezentat o sinteză a tuturor aspectelor metabolismului glicerinei în medii hipersaline [15].

Apa din bazinele de cristalizare a sării din toată lumea are o culoare roșiatică datorită prezenței masive a microorganismelor pigmentate. Una din acestea este *Dunaliella salina*, colorată roșu-portocaliu ca urmare a cantității însemnate de betacaroten, care poate ajunge la peste 15% din substanța uscată a celulei. *D. salina* și specia înrudită *D. bardawil* sunt chiar exploatate pentru producția comercială de betacaroten. O asemenea întreprindere există și la Eilat [9]. Cu toate că betacarotenul e cel mai abundent carotenoid al comunităților microbiene din bazinele de cristalizare din Eilat, culoarea apei se datorează în primul rând bacterioruberinei, un carotenoid de culoare roz aflat în *Haloquadratum* și alte archaea halofile. Acest aparent paradox poate fi explicat prin localizarea carotenoidelor în interiorul diferitelor organisme. Pigmenții *Dunaliellei* sunt concentrați sub formă de granule dense în cloroplast, pe când cei din archaea sunt răspândiți uniform pe suprafața membranei celulare, contribuind astfel mult mai mult la culoarea aparentă a apei [16,17].

În bazinele de cristalizare de la Eilat *D. salina* apare în mod normal în concentrații de câteva sute până la câteva mii pe mililitru. Dar în ciuda numărului mare încă nu există informații clare asupra activității fotosintetice pe care care acestea o desfășoară

in situ. Datorită fragilității celulelor nu se pot aplica metodele convenționale de măsurare a producției primare prin încorporarea de CO₂ marcat cu izotopi. Încercări recente de a măsura fotosinteza comparând absorbția și degajarea oxigenului la lumină și la întuneric au arătat că respirația archaeelor halofile e și ea dependentă de lumină [18], astfel încât informațiile despre fotosinteza *Dunaliellei* au rămas până azi foarte limitate.

Astfel, în cei 111 ani care au trecut de când Teodoresco a descris genul *Dunaliella*, s-au adunat multe date noi despre aceste alge. *Dunaliella* a devenit una dintre poveștile de succes ale exploatarii biotehnologice a microorganismelor halofile. Și totuși suntem încă departe de a-i înțelege pe deplin comportamentul în mediul său natural: lacuri sărate și bazine de cristalizare unde concentrația sării se apropie de saturație.

Bibliografie:

- [1] Dunal, F. 1838. Extrait d'un mémoire sur les Algues qui colorent en rouge certains eaux des marais salants méditerranéens. Ann. Sc. Nat. 2 Sér. Tom. 9 Bot. Paris, 172-174.
- [2] Teodoresco, E.C. 1905. Organisation et développement du *Dunaliella*, nouveau genre de Volvocacée-Polyblepharidée. Beih. z Bot. Centralbl. 18: 215-232.
- [3] Teodoresco, E.C. 1906. Observations morphologiques et biologiques sur le genre *Dunaliella*. Rev. Gen. Bot. 18: 353-371.
- [4] Hamburger, C. 1905. Zur Kenntnis der *Dunaliella salina* und einer Amöbe aus Salinenwasser von Cagliari. Arch. Protistenkd. 6: 111-131.
- [5] Jaenicke, L. 1998. Clara Hamburger and *Dunaliella salina* Teodoresco – a case study from the first half of the XXth century. Protist 149: 381-388.
- [6] Baas-Becking, L.G.M. 1931. Historical notes on salt and salt manufacture. *Scient. Month.* 32: 434-446.
- [7] Oren, A. 2005. A hundred years of *Dunaliella* research: 1905-2005. *Saline Syst.* 1: 2.
- [8] Avron, M., Ben-Amotz, A. (eds.) 1992. *Dunaliella: Physiology, Biochemistry, and Biotechnology*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- [9] Amotz, A., Polle, J.E.W., Subba Rao, D.V. (eds.) 2009. *The alga Dunaliella. Biodiversity, Physiology, Genomics and Biotechnology*, Science Publishers, Enfield, NH.
- [10] Oren, A. 2014. The ecology of *Dunaliella* in high-salt environments. *J. Biol. Res. Thessaloniki* 21: 23.
- [11] Oren, A., Shilo, M. 1982. Population dynamics of *Dunaliella parva* in the Dead Sea. *Limnol. Oceanogr.* 27: 201-211.
- [12] Oren, A., Gurevich, P., Anati, D.A., Barkan, E., Luz, B. 1995. A bloom of *Dunaliella parva* in the Dead Sea in 1992: biological and biogeochemical aspects. *Hydrobiologia* 297: 173-185.
- [13] Craigie, J.S., McLachlan, J. 1964. Glycerol as a photosynthetic product in *Dunaliella tertiolecta* Butcher. *Can. J. Bot.* 42: 777-778.
- [14] Wegmann, K. 1971. Osmotic regulation of photosynthetic glycerol production in *Dunaliella*. *Biochim. Biophys. Acta* 234: 317-323.
- [15] Oren, A. 2016. Glycerol metabolism in hypersaline environments. *Environ, Microbiol.*, in press.
- [16] Oren, A., Dubinsky, Z. 1994. On the red coloration of saltern crystallizer ponds. II. Additional evidence for the contribution of halobacterial pigments. *Int. J. Salt Lake Res.* 3: 9-13.
- [17] Oren, A. 2009. Microbial diversity and microbial abundance in salt-saturated brines: why are the waters of hypersaline lakes red? pp. 247-255 In: Oren, A., Naftz, D.L., Palacios, P., Wurtsbaugh, W.A.

- (eds.), Saline lakes around the World: Unique Systems with Unique Values. The S.J. and Jessie E. Quinney Natural Resources Research Library, College of Natural Resources, Utah State University.
- [18] Oren, A., Abu-Ghosh, S., Argov, T., Kara-Ivanov, E., Shitrit, D., Volpert, A., Horwitz, R. 2016. Expression and functioning of retinal-based proton pumps in a saltern crystallizer brine. *Extremophiles* 20: 69-77.

EMANOIL TEODORESCO AND THE DESCRIPTION OF DUNALIELLA (1905): WHAT HAVE WE LEARNED SINCE ABOUT THE MOST ABUNDANT GENUS OF EXTREMELY HALOTOLERANT ALGAE?

AHARON OREN

Department of Plant and Environmental Sciences, The Alexander Silberman Institute of Life Sciences,
The Hebrew University of Jerusalem, Edmond J. Safra Campus,
Jerusalem 91904, Israel; e-mail: aharon.oren@mail.huji.ac.il

The genus *Dunaliella* was described in 1905 by Emanoil Teodoresco (Siminecea, Suceava, 1866 – Bucharest, 1949, and member of the Academia Română since 1945). Teodoresco examined brine samples from Lacul Sărat near Brăila, colored red due to the abundant occurrence of brightly red-pigmented unicellular flagellate algae. Occurrence of such algae in hypersaline waters was first reported in 1838 by Michel Félix Dunal in the salterns near Montpellier, France, and named *Protococcus salinus* and *Haematococcus salinus* [1]. Other names were later given to the organism, such as *Chlamydomonas Dunalii* Cohn and *Monas Dunalii* Joly. Teodoresco made an in-depth taxonomic study of these algae, which led to their description as a new genus *Dunaliella* Teod. With two species: the larger *D. salina* and the smaller *D. viridis* which does not accumulate red pigment. He described the morphology of the flagellate cells ('zoospores') and the life cycle of the species, examined its salt dependence and described how cells increase in volume when exposed to a sudden decrease in salinity [2, 3].

At the same time Teodoresco studied his samples from Lacul-Sărat, Clara Hamburger (Breslau (Wrocław) 1873 – Berkeley, CA 1945), working in Heidelberg, Germany, examined brine samples from the salterns of Cagliari, Sardinia. While preparing a manuscript describing the results of her studies she learned about the publication of the first of Teodoresco's *Dunaliella* papers. Just a few months later she published her findings, acknowledging Teodoresco's priority in naming the new genus, and confirming most of Teodoresco's findings and extending upon them [4,5]. She disagreed with Teodoresco's conclusion that the red pigment ("haematochrome", now known to be β -carotene) is located both in the cytoplasm and in the single large chloroplast ("chromatophore"), and she claimed that the pigment is found only in the outer layer of the 'protoplast'. Both were wrong: the location of the β -carotene granules in the chloroplast only was stated by Baas Becking in 1931 [6] and confirmed by later electron microscopy studies. To honor the pioneering work by Teodoresco and Hamburger I published a historical survey on *Dunaliella* research a hundred years after the description of the genus [7].

Currently about 28 species are classified in the genus, of which 23 are living in saline or hypersaline environments only. Two monographs have been dedicated to this interesting group of organisms [8, 9]. No alga is studied as intensively as *Dunaliella* as a model for osmoregulation, pigment production and commercial mass culture.

Dunaliella species are the main or even the sole primary producers in hypersaline water bodies with salt concentrations above 200 g/l, and some can even grow, albeit slowly, in brines saturated with sodium chloride. Understanding the biology of *Dunaliella* is therefore the key toward the understanding the microbial ecology of hypersaline lakes and saltern crystallizer ponds [10]. Thus, since I started my studies on halophilic microorganisms and their interactions in the Dead Sea in 1980 and in the saltern ponds of Eilat at the Red Sea coast of Israel, I invested much effort in the elucidation of the role of *Dunaliella* in these ecosystems.

Microbial life in the Dead Sea depends entirely on the photosynthetic activity of *Dunaliella*. Since systematic monitoring of the microbial communities in the Dead Sea started in 1980, two episodes of intense activity of heterotrophic communities of red halophilic Archaea have occurred: the first in 1980-1982 and the second in 1992-1995. In both cases the development of these archaeal blooms was preceded by massive development of a green species of *Dunaliella*, identified as *D. parva* [11, 12]. Currently the Dead Sea, with a total dissolved salts concentration of ~350 g/l and its high concentrations of magnesium and calcium ions, does not support growth even of the best high-salt-adapted phototrophs, but dilution of the upper water layers by massive rain floods and availability of phosphate, which is the limiting inorganic nutrient in the lake, triggered the development of dense communities of *Dunaliella* in 1980 and in 1992, and they supplied the organic material supporting the archaeal blooms. Glycerol is a key compound linking the metabolism of the alga with that of the heterotrophs, as *Dunaliella* accumulates molar concentrations of glycerol for its osmotic stabilization as discovered in the 1960s and 1970s [13,14]. Therefore I recently summarized all aspects of glycerol metabolism in hypersaline environments in a review article [15].

Saltern crystallizer brines worldwide have a pink-reddish color due to the massive presence of pigmented microorganisms. *Dunaliella salina* is one of those, being colored orange-red by β -carotene which can make up 15% and more of the cell's dry weight. *D. salina* and its close relative *D. bardawil* are even exploited for the commercial production of β -carotene, including in Eilat [9]. But in spite of the fact that β -carotene is by far the most abundant carotenoid found in the microbial community in the Eilat saltern brines, the color of the water is determined primarily by the pink bacterioruberin carotenoids of *Haloquadratum* and other halophilic Archaea. This apparent paradox can be explained by the location of the different carotenoids within the cells. While in the Archaea the pigments are uniformly distributed over the cell membrane, β -carotene is concentrated in *Dunaliella* in dense granules within the alga's chloroplast, and thus it contributes little to the overall coloration of the brine [16, 17].

D. salina cells are typically found in numbers of several hundreds to several thousand per milliliter of Eilat crystallizer brine. But in spite of these large numbers there is no reliable information yet on their photosynthetic activity *in situ*. Due to the fragility of the cells, conventional methods of assessing primary production by incorporation of radiolabeled CO_2 are highly problematic. Recent attempts to assess its activity by monitoring differences in oxygen evolution or uptake in the light and in the dark

showed that respiration by the halophilic Archaea in the brines is also light-dependent [18], so that information about the true activity of *Dunaliella* cells in their natural environment is still very limited.

Thus, in the 111 years that have passed since Teodoresco described the genus *Dunaliella* much new information has accumulated about these algae. *Dunaliella* has even become one of the few success stories of biotechnological exploitation of halophilic microorganisms. However, we are still far from a full understanding its behavior in its natural environment: salt lakes and saltern ponds at or close to salt saturation.

References:

- [1] Dunal, F. 1838. Extrait d'un mémoire sur les Algues qui colorent en rouge certains eaux des marais salants méditerranéens. Ann. Sc. Nat. 2 Sér. Tom. 9 Bot. Paris, 172-174.
- [2] Teodoresco, E.C. 1905. Organisation et développement du *Dunaliella*, nouveau genre de Volvocacée-Polyblepharidée. Beih. z Bot. Centralbl. 18: 215-232.
- [3] Teodoresco, E.C. 1906. Observations morphologiques et biologiques sur le genre *Dunaliella*. Rev. Gen. Bot. 18: 353-371.
- [4] Hamburger, C. 1905. Zur Kenntnis der *Dunaliella salina* und einer Amöbe aus Salinenwasser von Cagliari. Arch. Protistenkd. 6: 111-131.
- [5] Jaenicke, L. 1998. Clara Hamburger and *Dunaliella salina* Teodoresco – a case study from the first half of the XXth century. Protist 149: 381-388.
- [6] Baas-Becking, L.G.M. 1931. Historical notes on salt and salt manufacture. Scient. Month. 32: 434-446.
- [7] Oren, A. 2005. A hundred years of *Dunaliella* research: 1905-2005. Saline Syst. 1: 2.
- [8] Avron, M., Ben-Amotz, A. (eds.) 1992. *Dunaliella*: Physiology, Biochemistry, and Biotechnology. CRC Press, Boca Raton, FL.
- [9] Amotz, A., Polle, J.E.W., Subba Rao, D.V. (eds.) 2009. The alga *Dunaliella*. Biodiversity, Physiology, Genomics and Biotechnology, Science Publishers, Enfield, NH.
- [10] Oren, A. 2014. The ecology of *Dunaliella* in high-salt environments. J. Biol. Res. Thessaloniki 21: 23.
- [11] Oren, A., Shilo, M. 1982. Population dynamics of *Dunaliella parva* in the Dead Sea. Limnol. Oceanogr. 27: 201-211.
- [12] Oren, A., Gurevich, P., Anati, D.A., Barkan, E., Luz, B. 1995. A bloom of *Dunaliella parva* in the Dead Sea in 1992: biological and biogeochemical aspects. Hydrobiologia 297: 173-185.
- [13] Craigie, J.S., McLachlan, J. 1964. Glycerol as a photosynthetic product in *Dunaliella tertiolecta* Butcher. Can. J. Bot. 42: 777-778.
- [14] Wegmann, K. 1971. Osmotic regulation of photosynthetic glycerol production in *Dunaliella*. Biochim. Biophys. Acta 234: 317-323.
- [15] Oren, A. 2016. Glycerol metabolism in hypersaline environments. Environ, Microbiol., in press.
- [16] Oren, A., Dubinsky, Z. 1994. On the red coloration of saltern crystallizer ponds. II. Additional evidence for the contribution of halobacterial pigments. Int. J. Salt Lake Res. 3: 9-13.
- [17] Oren, A. 2009. Microbial diversity and microbial abundance in salt-saturated brines: why are the waters of hypersaline lakes red? pp. 247-255 In: Oren, A., Naftz, D.L., Palacios, P., Wurtsbaugh, W.A. (eds.), Saline lakes around the World: Unique Systems with Unique Values. The S.J. and Jessie E. Quinney Natural Resources Research Library, College of Natural Resources, Utah State University.
- [18] Oren, A., Abu-Ghosh, S., Argov, T., Kara-Ivanov, E., Shitrit, D., Volpert, A., Horwitz, R. 2016. Expression and functioning of retinal-based proton pumps in a saltern crystallizer brine. Extremophiles 20: 69-77.

MICROBIOTA INTESTINALĂ NORMALĂ – PRIETEN SAU DUȘMAN?

VERONICA LAZĂR

Departamentul de Botanică – Microbiologie, Facultatea de Biologie, Universitatea din București

Microbiota normală, o comunitate microbiană foarte diversă, ce populează toate suprafețele corpului animal/ uman – tegumente și mucoase, este situs – specifică și cu grade diferite de densitate numerică. Cea mai diversă și abundentă, cu cele mai complexe efecte asupra gazdei este microbiota intestinală, considerată un factor cheie pentru starea de sănătate a gazdei, prin efectele locale și la distanță.

Microbiota intestinală umană este formată dintr-un număr impresionant de celule bacteriene mai ales, dar și archaee, levuri, protozoare, constituind microbiomul, un rezervor de gene care codifică molecule implicate în diverse procese fiziologice de care beneficiază și organismul gazdă, motiv pentru care microbiota intestinală este considerată un adevărat “extra-organ” al gazdei. Metodele convenționale bazate pe cultivare au permis izolarea și identificarea unei proporții reduse din speciile componente, însă utilizând tehnologii moderne a fost posibilă nu numai o apreciere mai corectă a diversității speciilor, ci și înțelegerea mecanismelor prin care are loc comunicarea inter-regn, dintre bacteriile simbiotice și celulele epiteliale ale mucoasei. Este deja bine stabilit faptul că microbiota intestinală este esențială pentru homeostazia organismului gazdă, prin efectul trofic asupra epiteliului intestinal, prin rolul major în maturarea structurilor implicate în imunitatea înnăscută și adaptativă, implicit în protecția față de acțiunea microorganismelor patogene, bazată pe acțiunea lor antagonistă și efectul de barieră antiinfecțioasă.

O proprietate esențială care permite relația de tip simbiotic a microbiotei cu gazda sa rezidă în separarea anatomică a microbiotei de organismul gazdă prin mai multe bariere (integritatea epiteliului, cu celule Paneth și în formă de cupă, stratul de mucus) care țin sub control microbiota și a căror perturbare conduce la inflamație și boală, inclusiv cancer. Bariera intestinală conține și celule ale sistemului imunitar în foliculii limfoizi asociați tractului gastric (GALT), ce secretă imunoglobulina A (sIgA), singurul component al imunității specifice prezent în secreții, fiind un mecanism suplimentar de control al microbiotei, cu efect de limitare a accesului antigenelor microbiene în circulație și de inhibare a potențialului de translocare în mediul intern al microorganismelor aerobe și aerobe/facultativ anaerobe. Interesant este că acest potențial nociv al aerobilor este controlat de microbiota însăși, prin speciile anaerobe conținute, care predomină în colon. În plus, microbiomul exercită un efect de barieră funcțională prin menținerea *turnover*-ului celulelor intestinale, prin stimularea producerii de mucină și prin competiția pentru situsurile de aderență și nutrienți, reducând rata de creștere a patogenilor.

Microbiota și organismul gazdă au co-evoluat într-un super-organism, caracterizat printr-o relație bilaterală mutual avantajoasă, de care gazda beneficiază în multe feluri, dar mai ales prin nutriție și metabolism. Aceasta relație strânsă prezintă și riscul dez-

voltării unor patologii, mai ales când mecanismele reglatorii ale gazdei de menținere a homeostaziei sunt perturbate.

Deși rolul microbiotei în digestie a fost considerat minor la om, în prezent se cunoaște că este implicată în reacții metabolice, cum ar fi: degradarea componentelor care depășesc intestinul subțire, biotransformarea conjugatelor formate de acizii biliari, sinteza unor vitamine (B12, K). De asemenea, anumiți metaboliți microbieni acționează local, dar și la distanță, după absorbția în mediul intern, având efecte benefice (acizii grași cu lanț scurt), dar și dăunătoare, contribuind la starea de boală a gazdei.

Este dovedit că microorganismele autohtone, tolerate de către gazdă, prin moleculele lor de suprafață denumite generic module, stimulează apărarea gazdei la nivel local, celulele mucoasei la rândul lor sintetizând peptide antimicrobiene sau defensine; această comunitate densă, secretă și molecule cu rol în comunicarea intra-și inter-specii, recepționate însă și de celulele gazdei, toate contribuind la starea de echilibru sau eubioză, de homeostazie intestinală și de sănătate a gazdei. Dimpotrivă, o debalansare a microbiotei și starea consecutivă de disbioză, adesea datorată antibioterapiei, poate contribui la o stare de vulnerabilitate a gazdei și de progresie a diferitelor maladii cronice. Date recente sugerează că multe maladii inflamatorii și metabolice, deși nu pot fi atribuite unui anumit patogen, sunt consecința unor modificări globale în microbiomul intestinal.

Dacă starea de eubioză este dată de biodiversitatea microbiotei, fiind un rezultat al co-evoluției îndelungate și co-adaptării, o întrerupere a acestei stări și a efectului de barieră, prin reducerea unor populații bacteriene și absenței unor metaboliți cu efect antiinfecțios, aceasta va permite unei specii patogene sau condiționat-patogene să adere, să se multiplice și să colonizeze nișa disponibilă pe epiteliul mucoasei. În același timp, structura și metabolismul acestor celule gazdă vor fi afectate, conducând spre starea de boală. Compoziția microbiotei este influențată direct și de dieta gazdei, ca și de alți factori.

Mai mult, este deja bine stabilită relația directă între infecțiile cronice, inflamație și carcinogeneză; în prezent, se consideră că aprox. 18% din toate cazurile de neoplazii sunt corelate direct cu anumiți agenți infecțioși. Studiile de metagenomică și metabolomică au avut un rol important în definirea și înțelegerea rolului cheie al microbiomului în metabolism și inflamație, doi factori care contribuie la carcinogeneză în societatea modernă, la populația cu o alimentație de tip vestic (bogată în grăsimi, zahăr și săracă în fibre alimentare) și adesea sedentară. Dereglarea mecanismelor de control (defecte la nivelul barierei intestinale, a mecanismelor imune și pierderea stării de eubioză) au fost asociate cu carcinogeneza indusă de anumiți agenți infecțioși. Numeroase studii clinice și experimentale au stabilit o legătură între un anumit *pattern* al microbiotei intestinale și cancerul colorectal, care pare a fi mai degrabă consecința unui dezechilibru al relației dintre gazdă și microbiota intestinală și stării consecutive de disbioză, decât a unei infecții cu un patogen specific. Anumite toxine bacteriene sunt implicate în tumorigeneză, exercitând un efect direct asupra ADN-ului și insta-

bilitate genomică, fiind deci genotoxice. Dar și anumiți metaboliți bacterieni, cum ar fi hidrogenul sulfurat și ionul superoxid pot cauza instabilitate genomică.

În aceste condiții, studiul microbiomului trebuie continuat, rezultatele cercetărilor constituind premise pentru dezvoltarea de noi metode de diagnostic, profilaxie și noi strategii terapeutice antiinfecțioase, dar și de prevenire a cancerului și altor maladii cronice, prin reechilibrarea microbiotei, reducerea genotoxicității induse de anumite specii/tulpini microbiene și a inflamației cronice consecutive.

Produsele prebiotice, probiotice mono- sau multispecifice (sau metaboliți ai acestora), transplantul de microbiotă normală sunt soluțiile actuale prin care poate fi restaurată starea de eubioză a relației microbiotă – gazdă și de sănătate a gazdei.

Această prezentare se va concentra pe date noi privind compoziția microbiotei normale și pe mecanismele tranziției de la starea de microorganisme benefice și tolerate de gazdă, la starea de disbioză și implicațiile acesteia în anumite patologii, intestinale și extraintestinale.

REZISTENȚA LA ANTIBIOTICE: CAUZE, CONSECINȚE ȘI STRATEGII DE COMBATERE

MARIANA CARMEN CHIFIRIUC

Facultatea de Biologie, Universitatea din București; Institutul de Cercetări al Universității din
București-ICUB, Secțiunea Științele Vieții, Mediului și Pământului

Deși antibioticele au revoluționat practica medicală, descoperirea lor fiind considerată una dintre marile realizări ale civilizației umane, în prezent, utilizarea terapeutică a antibioticelor este limitată, într-o măsură tot mai mare, de dezvoltarea toleranței sau rezistenței microorganismelor și a virusurilor, astfel încât există, cel puțin în anumite situații, riscul reînțoarcerii practicii medicale la era preantibiotică.

Dezvoltarea rezistenței este inevitabilă după introducerea în clinică a unui antibiotic nou, fiind mediată adeseori de mecanisme surprinzătoare, care au devenit funcționale foarte rapid, ca o consecință a plasticității mecanismelor genetice implicate în acest proces. Creșterea numărului de tulpini rezistente este reflectată în tendința ascendentă a morbidității și a mortalității, datorate în special infecțiilor cauzate de bacteriile rezistente.

În ultimii ani, autoritățile internaționale au făcut eforturi considerabile pentru a îmbunătăți monitorizarea circulației tulpinilor bacteriene rezistente la antibiotice. România este membru al rețelei EARSS (*European Antimicrobial Resistance Surveillance*) din 2001. În anul 2009, atât rezistența la antibiotice (RA), cât și necesitatea consolidării cooperărilor intersectoriale umane, animale și agricole au fost incluse ca priorități în planul de lucru al Programului de Sănătate al UE, care promovează astfel finanțarea proiectelor din această arie de cercetare. În acest cadru, a fost inițiat Programul Comun de Combatere a Rezistenței Microbiene (*Joint Programming Initiative on Antimicrobial Resistance -JPIAMR*), cu scopul de a crea o agendă comună a cercetării europene, cu o viziune unificată asupra combaterii RA.

Apariția fenomenului de rezistență și diseminarea tulpinilor rezistente în biosferă sunt rezultatul presiunii selective continue exercitate prin supradozarea, subdozarea sau prin utilizarea neadecvată a antibioticelor folosite în mod curent pentru tratarea infecțiilor. Comunitățile microbiene din mediu, ca și microbiomul uman, animal și alimentar reprezintă un rezervor infinit de gene de rezistență (ARG), care poate fi mobilizat în bacteriile patogene. Această rezervă de ARG, care contribuie direct sau indirect la RA, fie că sunt origine la organismele producătoare de antibiotice (unde au rolul de auto-protecție), sau sunt mobilizate și supraexprimate la alte gazde ne-native (mobilomul), a fost denumită recent, rezistom. În ultimii ani, noile abordări tehnologice, în special cele de metagenomică funcțională, au dus la descoperirea și caracterizarea a noi gene de rezistență.

Bacteriile și/sau genele de rezistență la antibiotice pot fi transmise direct sau indirect din mediu la om, ca o consecință a contaminării, prin utilizarea recentă a antibioticelor în agricultură și aquacultură, care selectează genele de rezistență intrinsecă.

Multe ARG pentru diferite antibiotice din diferite clase (tetraciline, aminoglicozide, macrolide, cloramfenicol, vancomicină, sulfonamide și β -lactami) au fost detectate în diferite surse de apă, prin diferite tehnici moleculare. Genele care codifică carba-penemazele la bacteriile Gram negative par să își aibă originea în speciile bacteriene din mediul acvatic.

RA este așadar un fenomen natural și vechi, iar creșterea recentă a rezistenței bacteriilor patogene este rezultatul mobilizării mai vechi și mai noi, a ARG din rezervoarele de mediu și din rezervoarele animale și al trecerii lor la patogenii umani. Factorii antropogenici ce contribuie la mobilizarea (activarea) și la diseminarea genelor de rezistență sunt reprezentați de utilizările alternative ale antibioticelor și antisepticelor în scop profilactic pentru stimularea creșterii animalelor; în scop terapeutic/profilactic în aquacultură; pentru controlul agenților infecțioși ai plantelor ornamentale și în agricultură și de utilizarea biocidelor în gospodărie.

Studiul rezervoarelor de rezistență este așadar absolut necesar pentru identificarea căilor de limitare a diseminării, transmiterii și circulației tulpinilor rezistente în mediile naturale, umane și animale.

În unele cazuri, tulpinile suprazistente au dobândit niveluri crescute de virulență și contagiozitate, RA fiind considerată în prezent un factor de virulență.

Rata introducerii în terapie a unor noi medicamente cu efect antibiotic este net inferioară ratei de selecție a unor noi tulpini bacteriene rezistente. Dacă în perioada 1930-1962 au fost produse mai mult de 20 de clase noi de antibiotice, de atunci numai două noi clase de antibiotice au fost introduse în clinică, restul compușilor antimicrobieni introduși fiind analogi ai claselor existente.

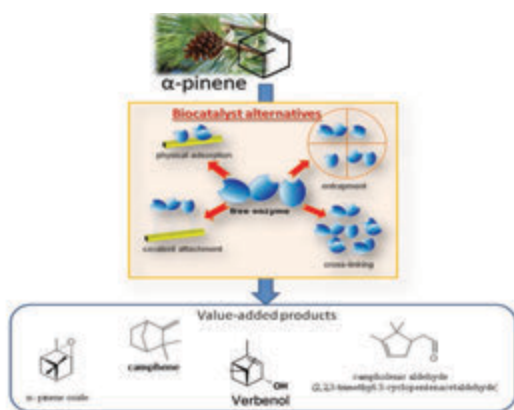
În prezent, dezvoltarea unor noi strategii antimicrobiene vizează compuși naturali cu efect microbicid / microbiostatic sau antipatogenic, care atenuază virulența bacteriană, fără a interfera cu creșterea microbiană. Spre deosebire de agenții antimicrobieni convenționali care distrug microorganismele și favorizează selectarea tulpinilor rezistente, compușii antipatogenici neutralizează potențialul patogen al microorganismelor, restabilind capacitatea sistemului imunitar de a elimina agentul infecțios. Prin limitarea capacității de invazie sau de colonizare microbiană, strategiile antipatogenice ar putea constitui, de asemenea, un mijloc de intervenție preventivă, în special pentru populațiile cu risc crescut de colonizare cu tulpini bacteriene multiplu rezistente. Nanotehnologia și biologia sintetică pot contribui semnificativ la dezvoltarea de noi agenți antimicrobieni și biomateriale cu proprietăți anti-biofilm.

PROCESE BIOCATALITICE ÎN VALORIFICAREA BIOMASEI – APORTUL ENZIMELOR DE TIP LIPAZĂ ȘI PEROXIDAZĂ ÎN PRODUCEREA BIO-MATERIALELOR

MĂDĂLINA TUDORACHE

Departamentul de Chimie Organică, Biochimie și Cataliză, Facultatea de Chimie, Universitatea din București, Bd. Regina Elisabeta 4-12, București 030016, Romania

Biocataliza este o ramură esențială a Catalizei în care procesele sunt catalizate de enzime în formă purificată sau naturală (în interiorul celulelor biologice). Există o gamă variată de enzime folosite drept biocatalizator în industrie (ex. peroxidaze, lipaze, decarboxilaze, hidroxilaze, transaminaze, etc). Design-ul biocatalizatorilor este realizat în funcție de aplicația dorită (schema 1). Astfel, există biocatalizatori de tipul enzimă liberă în soluție sau enzimă imobilizată pe suport solid. Biocatalizatorul astfel



Schema 1. Alternative de construire a biocatalizatorilor de tipul enzimă imobilizată pe suport solid.

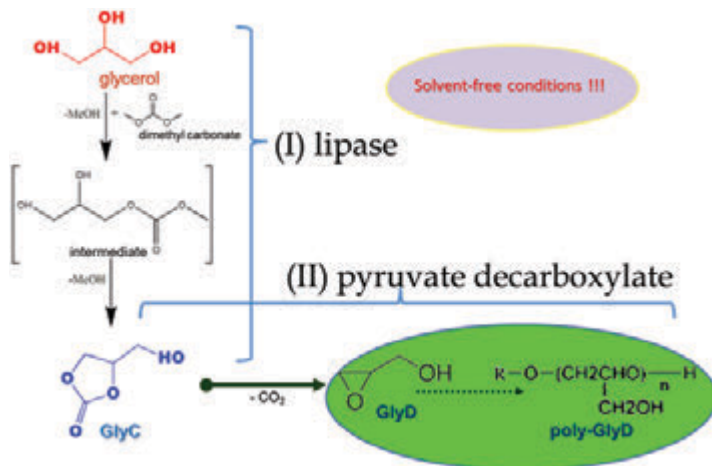
realizat este caracterizat urmărind activitatea catalitică, stabilitatea și repetabilitatea în sistem. Acești parametri indică eficiența biocatalizatorului în procesul dorit.

Procesele biocatalitice constituie un candidat important în transformarea biomasei, aceasta din urmă fiind privită ca o sursă regenerabilă de C, oferind o perspectivă promițătoare industriei chimice. Lignina din plante, glicerolul din procesul biodiesel, alfa-pinenul

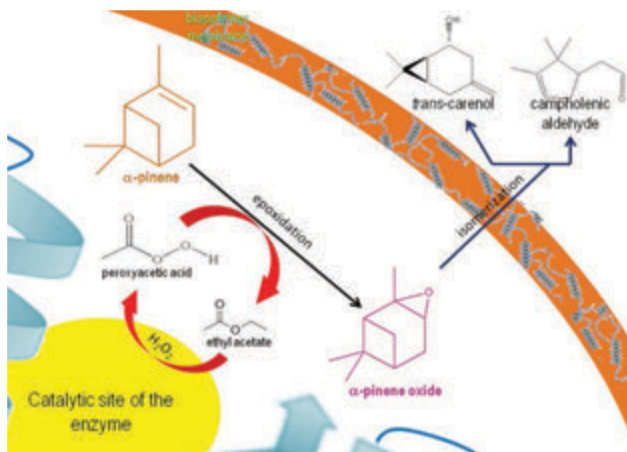
din turpentina sunt câteva exemple de compuși naturali care au potențialul necesar pentru a fi considerați molecule platformă în generarea bio-materialelor (materiale preparate din surse naturale). Transformarea lor cu ajutorul proceselor biocatalitice oferă un aspect „verde” tehnologiei de producere a bio-materialelor în perspectiva principiilor Chimiei Verzi.

Grupul nostru de cercetare își dedică activitatea științifică elaborării unor astfel de procese biocatalitice menite să transforme compuși naturali în produși cu valoare industrială implicați în producerea bio-materialelor.

Un prim exemplu îl constituie procesul de transformare a glicerolului (Gly) din industria biodiesel în glicerol carbonat (GlyC) și chiar glicidol (GlyD) (schema 2). În acest caz, enzima catalizator este lipaza. Procesul implică transesterificarea dimetil carbonatului cu Gly generând GlyC. Cuplarea unei enzime de tip decarboxilază la sistemul lipazei continuă transformarea GlyC către GlyD. GlyC este considerat un solvent verde al viitorului, în timp ce GlyD este un important precursor în industria polimerică. Cascada de reacții biocatalitice a fost optimizată și testată pentru probe de



Schema 2. Transformarea biocatalitică a Gly în GlyC și chiar GlyD, cu perspective în industria polimerică



Schema 3. Oxidarea biocatalitică a alfa-pinenului realizată cu enzima lipază imobilizată în matricea unui bio-polimer (alginat/ κ-caraginan).

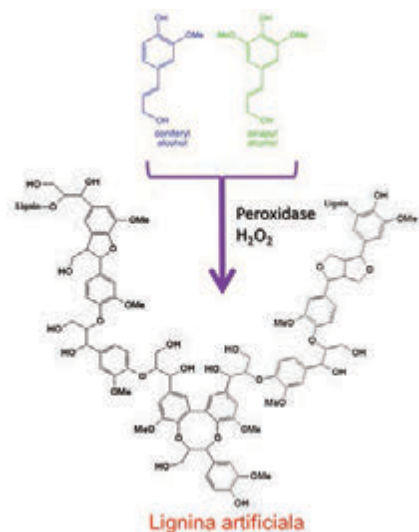
generând o multitudine de oxi-derivați ai alfa-pinenului [5]. Utilizarea unei membrane biopolimerice pentru „capturarea” lipazei permite îmbunătățirea selectivității procesului. Selectivitatea epoxidului scade ca valoare în favoarea *trans*-careneolului și aldehydei camfolenice (schema 3) [6].

Un alt exemplu de biocatalizator îl constituie enzimele din clasa peroxidazelor a căror utilizare în laborator implică realizarea unor structuri ligninice cu proprietăți pre-definite. Sistemul propus de noi este de fapt re-polimerizarea fragmentelor (oligomerilor) de lignina cu structură și dimensiune bine cunoscute (schema 4).

Gly provenite direct din reaktorul biodiesel. Rezultatele experimentale aferente au constituit subiectul mai multor publicații de specialitate [1-4].

Tot enzimele de tip lipază sunt folosite cu succes pentru producerea oxi-derivaților proveniți de la alfa-pinen. Procesul biocatalitic implică epoxidarea alfa-pinenului și mai departe, stabilizarea epoxidului cu generare de

structuri oxidice variate. Lipaza catalizează oxidarea unui co-substrat de tip acid organic sau derivat al acestuia (acetat de etil) cu ajutorul apei oxigenate (H₂O₂), la peroxi-derivat, care atacă la rândul lui molecula de alfa-pinen. Procesul poartă denumirea de biocataliză indirectă. Deoarece produsul de reacție este instabil (alfa-pinen epoxid), acesta se transformă rapid prin izomerizare/ rearanjare structurală



Schema 4. Producerea biocatalitică a ligninei folosind peroxidaza cu rol de biocatalizator.

Produsul polimeric generat trebuie să aibă proprietăți hidrofobe remarcante pentru a putea fi utilizat la construirea unor senzori electronici. Sistemul biocatalitic propus implică oxipolimerizarea resturilor ligninice, proces catalizat de enzima peroxidază. Procesul se bazează pe un mecanism radicalic, generând derivați polifenolici cu mase moleculare mari ($> 10^5$ Da). Astfel, au fost testate peroxidaze provenind din familii diferite (ex. HRP, UPO, VPO). Experimentele au implicat utilizarea unor monomeri de lignină (alcool sinapilic, alcool coniferilic și amestecul lor echimolecular) pentru punerea la punct a sistemului biocatalitic, urmată de evaluarea sistemului prin utilizarea unor fragmente provenite din degradarea chimică a ligninei naturale. Sistemul propus a permis transformarea rapidă (10 min) a 60 % din masa fragmentelor de lignină în produși polimerici. Din datele experimentale obținute se poate observa că eficiența procesului poate fi îmbunătățită pe baza compoziției amestecului de precursori (fragmente de lignină). De asemenea, au fost considerate aspecte precum optimizarea sistemului biocatalitic și caracterizarea produșilor polimerici obținuți.

Procesele biocatalitice indicate anterior vor fi detaliate în cadrul prezentării pentru a evidenția importanța enzimei cu funcție de catalizator în industria chimică a zilelor noastre.

Activitatea științifică prezentată a avut drept suport financiar următoarele proiecte: PCCA 273/2014, PCCA 105/2014 și TE 103/2015.

Referințe bibliografice

- [1] Tudorache, M., et al., *Applied Catalysis B: Environmental*, 145 (2014) 120-125.
- [2] Tudorache, M., et al., *RSC Advances*, 3 (2013) 4052-4058.
- [3] Tudorache, M., et al., *Applied Catalysis A: General*, 437-438 (2012) 90-95.
- [4] Tudorache, M., et al., *Green Chemistry*, 14 (2012) 478-482.
- [5] Tudorache, M., et al., *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 134 (2016) 9-15.
- [6] Tudorache, M., et al., *Carbohydrate Polymers*, 152 (2016) 726-733.

UN AN DE STUDIU INTEGRAT AL VIEȚII MICROSCOPICE DIN LACUL URSU (SOVATA, ROMÂNIA)

*BARICZ ANDREEA^{1,2}, BATTES KARINA PAULA³, CÎMPEAN MIRELA³, ANDREI ADRIAN-ȘTEFAN^{2,4},
CHIRIAC CECILIA¹, LEVEI ERIKA-ANDREEA⁵, MOMEU LAURA³, CRISTEA ADORJÁN^{2,4}, POP DIANA
ALEXANDRA², ALEXE MIRCEA⁶, MUNTEAN VASILE² ȘI HORIA LEONARD BANCUI^{2,4} **

¹ Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Științe Biologice, filiala Institutul de Cercetări Biologice, Cluj-Napoca, România.

² Departamentul de Biologie Moleculară și Biotehnologie, Facultatea de Biologie și Geologie, Universitatea "Babeș-Bolyai" din Cluj-Napoca, România.

³ Departamentul de Taxonomie și Ecologie, Facultatea de Biologie și Geologie, Universitatea "Babeș-Bolyai" din Cluj-Napoca, România.

⁴ Centrul de Biologie Sistemică, Biodiversitate și Bioresurse, Facultatea de Biologie și Geologie, Universitatea "Babeș-Bolyai" din Cluj-Napoca, România.

⁵ INCDO-INOE2000, Filiala Institutul de Cercetări pentru Instrumentație Analitică, Cluj-Napoca, România.

⁶ Facultatea de Geografie, Universitatea "Babeș-Bolyai" din Cluj-Napoca, România.

* Adresa de corespondență: Laboratorul de Biologie Moleculară, Biochimie și Biofizică, Facultatea de Biologie și Geologie, Universitatea "Babeș-Bolyai", Str. Clinicilor 5-7, 400006 Cluj-Napoca, România.

Introducere

Lacul Ursu (46°36'15 N; 25°05'09 E) este considerat cel mai mare lac natural sărat din România (cu o suprafață de 4,1 ha, ~1100 m în circumferință și adâncime maximă de ~18 m) (Alexe, 2010), având un statut de arie protejată de interes național (conf. Legii 462/2001). Nivelul ridicat de salinitate, fenomenul de heliotermie și sedimentarea masivă de nămol sapropelic au contribuit la exploatarea Lacului Ursu în scopuri turistice și, implicit, la ridicarea valorii sale economice pentru comunitatea localității Sovata (jud. Mureș). Până recent, ecosistemul Lacului Ursu a fost investigat cu preponderență prin prisma proprietăților sale hidrogeologice (Maxim, 1929; Alexe, 2010), a florei și faunei (Ionescu și colab., 1998), dar mai puțin în privința microorganismelor. Poziționarea lacului direct pe substratul de rocă sărată (halit) a dus, în timp, la sărăturarea accentuată a apei cu atingerea unui nivel de salinitate aproape de nivelul de saturație (> 30% salinitate totală) la adâncimi mai mari de 4 metri. Pe parcursul celor 140 de ani de existență, Lacul Ursu a devenit un bazin acvatic cu o puternică și permanentă stratificare fizico-chimică (meromixie) (Alexe, 2010; Andrei și colab., 2015). Nișele ecologice diferențiate ca rezultat al stratificării coloanei de apă au ca unic caracter comun salinitatea (mult peste cea a apei de mare). Mediul acvatic sărat limitează, în aparență, viața și diversitatea macroorganismelor, ecosistemul Lacului Ursu fiind susținut preponderent de componenta microbiană, puțin explorată până în prezent (Máthé și colab., 2014; Baricz și colab., 2015; Andrei și colab., 2015).

Investigația noastră a urmărit elucidarea diversității și distribuției spațio-temporale a microorganismelor (procariote și eucariote) ce populează Lacul Ursu printr-o abordare pluridisciplinară cu scopul înțelegerii mecanismelor fizico-chimice și biologice care stau la baza formării și funcționării ecosistemelor lacustre sărate și stratificate permanente.

Măsurătorile parametrilor ambientali (pH, temperatură, conductibilitate electrică, potențial oxido-reducător, concentrația oxigenului dizolvat) au fost efectuate *in situ* cu ajutorul unui multiparametru de teren (model HI9828, Hanna Instruments) timp de patru sezoane consecutive (iulie și noiembrie 2015; februarie și aprilie 2016) și la adâncimi diferite. Analizele chimice (concentrația de sodiu, potasiu, magneziu, cloruri, sulfați, sulfuri și a nutrienților – carbon organic, azot organic, nitriți, nitrați, amoniu, fosfați etc.) au fost realizate prin metode standardizate.

Evaluarea comunităților microbiene prin metode moleculare. Probele de apă colectate sezonier și pe adâncime (8 adâncimi, de la 0,5 m până la 9 m) au fost filtrate pe membrane cu porozitate de 0,2 μm pentru concentrarea biomasei microbiene și extracția ulterioară a ADN genomic ambiental (kit ZR Soil Microbe DNA, Zymo Research). ADN genomic obținut a fost verificat calitativ și cantitativ pe cale spectrofotometrică (NanoDrop, Thermo Scientific). Diversitatea taxonomică a microorganismelor de tip procariot a fost investigată prin secvențarea ampliconică (metabarcoding) a ADN ambiental pe o platformă Illumina MiSeq (Macrogen, Coreea de Sud). Secvențele brute obținute au fost procesate folosind platformele QIIME și Usearch v8 (Caporaso și colab., 2010; Edgar, 2010).

Studiul limnologic. Probele biologice au fost recoltate din zona de maximă adâncime a lacului, folosind aparatura specifică: fileu fitoplanctonic și prelevator de probă integrată pentru fitoplancton; fileu cu ochiurile de 50-55 μm; capcana Schindler-Patterson cu volum de 10 litri pentru zooplancton și fileu cu ochiurile de 250 μm; dragă Ponar pentru nevertebrate bentonice. Probele de fito- și zoobentos de pe maluri au fost recoltate prin raclare sau cu ajutorul fileelor (Eaton și colab., 2005). Toate probele au fost conservate în formol 4% și au fost prelucrate în laborator în vederea identificării principalilor taxoni și, unde a fost cazul, a indicilor ecologici.

Rezultate

Distribuția spațio-temporală a diversității moleculare a procariotelor din Lacul Ursu

Orizontul fotic, oxigenat al coloanei de apă din Lacul Ursu (mixolimnion, 0,5-2 m) este populat de membri ai încrengăturilor Proteobacteria, Bacteroidetes și Actinobacteria, în timp ce partea hipersalină, microoxică/anoxică (3-9 m) prezintă o diversitate mai ridicată, marcată de predominanța unor taxoni neclasificați sau aparținând unor încrengături necultivate (GN02, OD1, OP1), împreună cu membri ai încrengăturilor Bacteroidetes, Firmicutes, Chlorobi și Cyanobacteria (Figura 1).

Abundența relativă a secvențelor aparținând Proteobacteria și Bacteroidetes scade cu adâncimea, iar cele aparținând Cyanobacteria prezintă maxime la 2 și 4 m. Secvențele atribuite bacteriilor fotoautotrofe sulfoxidante verzi din grupul Chlorobi ating un maxim de abundență la 3,5 m adâncime, în acest strat concentrația de hidrogen sulfurat fiind ridicată (☉ 4 mM). În adâncime, (zona afotică, hipersalină, anoxică și puternic reducătoare; monimolimnion) s-a determinat un conținut constant ridicat de

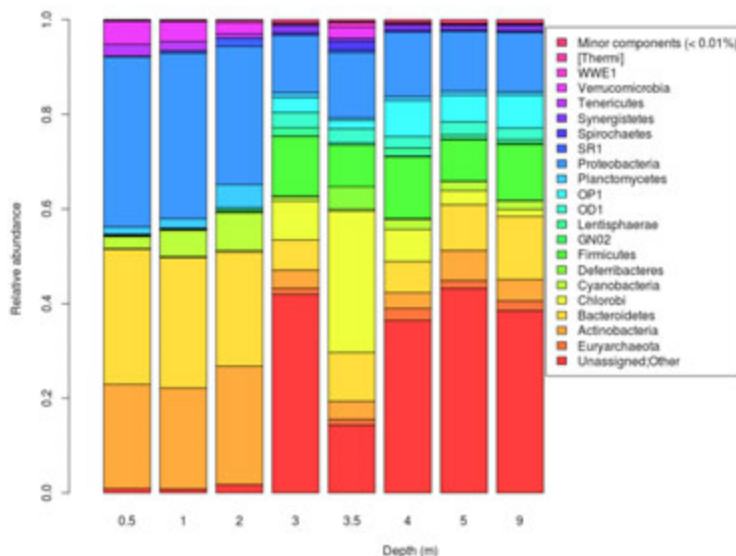


Figura 1. Abundența relativă a OTU identificate în Lacul Ursu, în funcție de adâncimea coloanei de apă. Pentru analiza diversității, datele de metabarcoding obținute pentru cele patru sezoane au fost grupate pe adâncime. Pentru fiecare punct în parte au fost selectate 38900 secvențe/probă, iar clasificarea taxonomică a OTU reprezentative s-a efectuat prin utilizarea platformei QIIME și a bazei de date Greengenes. Pentru crearea graficelor de abundență, a fost utilizată funcția barplot din R, pe baza filurilor cu abundența peste 1%, pentru fiecare adâncime și sezon.

carbon organic total, acumulare aparent favorizată de o rată redusă a proceselor oxidative, fenomen ce explică geneza nămolului sapropelic în astfel de bazine stagnante. În monimolimnion se observă atât prezența abundentă a secvențelor aparținând Archaea (Halobacteria), cât și a celor atribuite unor grupe de bacterii microaerofile sau anaerobe (Spirochetes, Deltaproteobacteria, Deferribacteres, OP1, OD1, WWE1). Structura comunităților microbiene prezintă fluctuații sezoniere reduse.

Comunitățile planctonice și bentonice din Lacul Ursu

În comunitatea algală specifică Lacului Ursu s-a identificat un număr de 107 taxoni. Pe lângă specii cu largă toleranță ecologică sau specifice perifitonului, sunt prezente și elemente euplanctonice tipice bazinelor acvatice cu apă stătătoare sărată. Unele dintre acestea sunt și formele dominante în cadrul comunității algale (*Chaetoceros mulleri*, *C. wighamii* dintre diatomee sau cianobacteria *Synechocystis minuscula* - în perioada de înflorire de iarnă).

Planctonul animal din Lacul Ursu a înregistrat o compoziție calitativă diferită față de studiile anterioare (Ionescu și colab., 1998), doar specia *Artemia cf. salina* – dintre cele cu frecvența mai mare de 50%, fiind comună celor două studii. În perioada 2015-2016 au devenit dominanți următorii taxoni: cladocerul *Moina salina*, rotiferele *Brachionus* și *Hexarthra* și două specii de copepode, *Cletocamptus retrogressus* și *Diacyclops bisetosus*.



Figura 2. Taxoni aparținând principalelor grupe de zooplancton prezente în probele recoltate din Lacul Ursu, Sovata în 2015-2016: A: rotiferul *Brachionus*; B: cladocerul *Moina salina*, femele partenogenetice; C: *Artemia* cf. *salina* femelă ovigeră.

Densitatea organismelor zooplanctonice a scăzut de la suprafață spre adâncime în toate sezoanele investigate. Interesant este că orizontul de adâncime mare a fost populat de indivizi viabili, ilustrând adaptabilitatea lor la micro- și chiar anoxie.

Valoarea generală a biomasei în perioada 2015-2016 pentru *Artemia* cf. *salina* a fost de 291,5 μg greutate umedă / L, comparativ cu 872,7 μg greutate umedă / L pentru cladocerul *Moina salina*, indicând *M. salina* drept zootaxonul dominant, în ciuda diferențelor de mărime între cele două specii (Figura 2).

Comunitățile de nevertebrate bentonice au cuprins un număr scăzut de grupe taxonomice. Familia Chironomidae a fost grupul cu cel mai mare număr de indivizi din probele prelevate secundat de familia Ephydriidae.

Concluzii

1. Coloana de apă a lacului Ursu este dominată de membri ai domeniului Bacteria, aparținând încrengăturilor Proteobacteria, Bacteroidetes și Actinobacteria în straturile oxigenate, și GN02, OD1, OP1 împreună cu Bacteroidetes, Firmicutes, Chlorobi și Cyanobacteria în orizontul hipersalin și anoxic.

2. Analizele de diversitate moleculară indică stabilitatea relativă a microbiomului din Lacul Ursu, variațiile în structura comunităților microbiene putând fi explicate în mare parte de stratificarea fizico-chimică a coloanei de apă și mai puțin de variațiile sezoniere.

3. Compoziția calitativă a comunităților planctonice și bentonice din Lacul Ursu este relativ diversă, în ciuda condițiilor de mediu extreme (salinitate ridicată, nivel scăzut de oxigen).

4. Datele fizico-chimice și biologice calitative și cantitative indică faptul că Lacul Ursu este un ecosistem dinamic, răspunzând la modificările condițiilor abiotice cu "reglaje" în structura și compoziția comunităților biotice caracteristice.

Mulțumiri: Prezenta cercetare a fost finanțată de CNCS-UEFIS-CDI prin proiectul de cercetare cu codul PN-II-ID-PCE-2011-3-0546 și numărul de contract 186 / 05.10.2011 (Director: Horia Leonard Banciu).

Bibliografie

- Alexe M. (2010) *Studiul lacurilor sărate din depresiunea Transilvaniei*. Presa Universitară Clujeană, Cluj-Napoca, Romania.
- Andrei A.-Ș. și colab. (2015). *ISME J.*, **9**:2642-2656.
- Baricz A. și colab. (2015) *Extremophiles*, **19**:525-537.
- Caporaso J.G. și colab. (2010). *Nature Methods*, **7**:335-336.
- Eaton A.D. și colab. (2005) *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 21st Ed. American Public Health Association, Washington DC.
- Edgar R. C. (2010). *Bioinformatics*, **26**:2460-2461.
- Ionescu V. și colab. (1998) *Int. J. Salt Lake Res.*, **7**:45-80.
- Máthé I. și colab. (2014) *Extremophiles*, **18**:501–514.
- Maxim I.A. (1929) *Rev. Muz. Geol.-Mineral. Univ. Cluj*, **3**(1):49-84.

SELECTAREA UNOR NOI TULPINI FUNCȚIONALE DE BACTERII LACTICE IZOLATE DIN MATERIALE VEGETALE, CU APLICAȚII ÎN BIOTEHNOLOGIILE ALIMENTARE

*MEDANA ZAMFIR¹, SILVIA-SIMONA GROSU-TUDOR¹, IULIA-ROXANA ȘTEFAN^{1,2},
MIHAELA-MARILENA STANCU¹, CĂLINA-PETRUȚA CORNEA², DIANA PELINESCU³*

¹Institutul de Biologie București, Departamentul de Microbiologie
²Universitatea de Științe Agronomice și Medicină Veterinară București,
Facultatea de Biotehnologii

³Universitatea din București, Centrul MICROGEN

Prin proiectul de față, inclus în programul PN-II-Parteneriate, ne-am propus izolarea de noi bacterii lactice din diferite surse de natură vegetală, puțin explorate la noi în țară (flori, fructe și legume proaspete și fermentate, borș) și selectarea de tulpini funcționale, cu potențial biotehnologic.

În prima etapă a proiectului au fost izolate peste 200 de tulpini de bacterii lactice. În continuare, s-a trecut la testarea acestora, în vederea selectării de tulpini funcționale. S-a testat efectul antibacterian față de bacterii Gram-pozitive și Gram-negative, inclusiv tulpini de bacterii fitopatogene. Activitatea antimicrobiană a bacteriilor lactice a fost corelată, în special, cu producerea de acizi organici și doar în cazul unui număr mic de tulpini (trei) aceasta a fost corelată cu biosinteza de bacteriocine; acestea sunt termosensibile, au masa moleculară mare (peste 30 KDa) și un spectru de acțiune foarte limitat, aparținând, cel mai probabil, clasei a III-a, a bacteriocinelor mari, termosensibile.

Efectul antifungic a fost testat față de un număr mare de tulpini fungice, izolate din diferite surse, în special de natură vegetală (fructe, legume, cereale), inclusiv tulpini producătoare de micotoxine. Peste 35% dintre bacteriile lactice testate au manifestat o acțiune inhibitoare față de cel puțin o tulpină fungică testată; cel puțin 7 dintre tulpinile testate au fost capabile să inhibe dezvoltarea fungilor din genul *Aspergillus*, precum și producerea de micotoxine. Efectul antifungic pare să fie corelat, în principal, cu producerea de acizi organici, printre care: acid lactic, acid acetic, acid fenilactic și acid hidroxifenilactic.

Paisprezece tulpini de bacterii lactice au fost selectate datorită capacității de a produce exopolizaharide. Polimerii sunt produși în cantități variabile, până la aproximativ 20 g/l, au masa moleculară mare (peste 1400 KDa) și, cel mai probabil, sunt homopolizaharide, alcătuite din monomeri de glucoză.

Tulpinile de interes au fost identificate la nivel de specie, folosind tehnici de biologie moleculară. Acestea aparțin, în principal, genului *Lactobacillus* (diferite specii, majoritatea *L. plantarum*) și speciei *Leuconostoc mesenteroides* (tulpinile producătoare de exopolizaharide).

În ultima etapă a proiectului au fost realizate experimente vizând utilizarea unor tulpini bacteriene selecționate, ca starter pentru obținerea de alimente fermentate în condiții de laborator (borș, murături).

BIOMINERALIZAREA LA *MAGNETOSPIRILLUM GRPHYSWALDENSE* ȘI LA *SYNECHOCYSTIS PCC 6803*: MECANISME BIOCHIMICE, SEMNIFICAȚIE BIOLOGICĂ ȘI POTENȚIAL BIONANOTEHNOLOGIC

IOAN ARDELEAN ȘI CRISTINA MOISESCU

Institutul de Biologie București al Academiei Române, Departamentul de Microbiologie

În această comunicare sunt prezentate rezultate originale ale autorilor, în conexiune cu date ale altor autori, referitor la procesele de biomineralizare a fierului (cu formare de nanoparticule de magnetită) la bacteria heterotrofă *Magnetospirillum grphyswaldense* și a aurului (cu formare de nanoparticule de aur) la cianobacteria *Synechocystis PCC 6803*. Sunt prezentate succint principalele mecanisme biochimice (și controlul acestora) ale biomineralizării la aceste două tipuri de bacterii: *Magnetospirillum grphyswaldense* considerat un exemplu de control biologic maxim al procesului de biomineralizare în lumea procariotelor și *Synechocystis PCC 6803* (cianobacteriile, în general) procariot la care biomineralizarea pare să fie un proces accidental, fără control biologic. Importanța bio(nano)tehnologică a nanoparticulelor de magnetită și a celor de aur este deasemenea discutată.

Bibliografie selectivă

- [1] Cristina Moisescu, Ioan Ardelean & Liane G. Benning, 2014. The effect and role of environmental conditions on magnetosome synthesis, Name: *Frontiers in Microbiology* 5, 49
- [2] Ioan I. Ardelean, 2015. Metallic Nanoparticle Synthesis by Cyanobacteria: Fundamentals and Applications. In *The Algae World* Eds (D Sahoo and J Seckbach), Springer Netherlands, Series Title, Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology, volume 26, ISBN 978-94-017-7320-1, DOI 10.1007/978-94-017-7321-8, Pages 429-448

COMUNITĂȚI MICROBIENE DIN PEȘTERA GHEȚARUL SCĂRIȘOARA

CORINA IȚCUȘ, MĂDĂLINA-DENISA PASCU, ALEXANDRA HILLEBRAND-VOICULESCU,
AUREL PERȘOIU, TRAIAN BRAD, IOAN ARDELEAN, CRISTINA PURCĂREA

Institutul de Biologie București al Academiei Române, Departamentul de Microbiologie

Habitatele glaciare reprezintă un model important pentru studiile palaeoclimatice și de exobiologie, constituind totodată o sursă majoră de tulpini microbiene și extremozime adaptate la temperaturi scăzute, cu potențial biotehnologic și medical. Studiile noastre privind diversitatea microorganismelor cultivate și necultivate din gheața perenă a Peșterii Ghețarul Scărișoara (România), unul dintre cele mai vechi blocuri de gheață din peșteri din întreaga lume, în cadrul unor proiecte de cercetare naționale și internaționale, au vizat determinarea diversității structurale și funcționale a comunităților bacteriene, archaeene și fungice în relație cu parametrii climatici, vârsta și compoziția geochimică a gheții și regimul de luminozitate.

Probele de gheață, având vârste cuprinse între 1 și 2000 ani, au fost prelevate în condiții aseptice din zonele *Rezervația Mică* și *Sala Mare* ale peșterii Scărișoara. Cuantificarea microorganismelor din probele de gheață prin măsurători de citometrie de flux a indicat un conținut microbial cuprins în intervalul 10^4 - 10^6 celule mL^{-1} . Prezența microbiotei cultivabile în probele de gheață a fost investigată prin incubarea acestora la 4°C și 15°C în diferite medii de cultură și analiza prin microscopie electronică de baleaj (SEM). Densitatea celulară a fracțiunii cultivabile a comunităților microbiene din probele de gheață estimată prin metoda diluțiilor seriale (10^2 - 10^4 CFU mL^{-1}) a prezentat o scădere exponențială cu vârsta stratului de gheață. Analiza BIOLOG EcoPlates a evidențiat diversitatea funcțională a comunităților microbiene și corelarea acesteia cu conductivitatea, conținutul total de carbon organic (TOC) și conținutul total de azot (TN) ale gheții. Analiza PCR-DGGE și secvențializarea ampliconilor 16S/18S ADNr a relevat prezența dominantă a speciilor aparținând *Gammaproteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* și *Actinobacteria*, respectiv speciilor fungice *Aureobasidium pullulans* și *Candida* sp.

Diversitatea microbială din straturile de gheață de 1, 400 și 900 de ani determinată prin pirosecvențializare 454 a ADNr 16S a evidențiat prezența a 14,000 de tulpini bacteriene și archaeene diferite, distribuția filamentelor bacteriene dominante în diferitele straturi de gheață fiind influențată de conținutul de C și N al gheții. Prezența speciilor archaeene a fost evidențiată doar în gheața de 400 și 900 de ani, aparținând unor taxoni cu metabolism distinct în funcție de vârsta și conținutul organic al gheții.

Ansamblul rezultatelor reprezintă primul studiu al diversității microbiene la nivelul gheții perene din peșteri, urmărind identificarea unor potențiali biomarkeri ai schimbărilor climatice și de mediu din ultimul mileniu.

Acest studiu a fost finanțat de ANCS-UEFISCDI România prin proiectul PN-II-ID-PCE-2011-3-0742 (contract nr. 159/28.10.2011).

IZOLAREA ȘI CARACTERIZAREA UNEI TULPINI DE *SERRATIA*

MIHAELA MARILENA STANCU

Institutul de Biologie București al Academiei Române, Departamentul de Microbiologie, Splaiul
Independenței 296, București 060031, CP 56-53, România, telefon +40212219202; fax
+40212219071,
e-mail mihaela.stancu@ibiol.ro

Bacteriile din genul *Serratia* sunt larg răspândite în natură, inclusiv în medii poluate cu petrol și produse petroliere (sol, sedimente, ape). Conform datelor din literatura de specialitate, atât petrolul, cât și produsele petroliere au un conținut mare de solvenți organici, care sunt toxici pentru majoritatea microorganismelor. Cu toate acestea, există unele bacterii capabile să tolereze concentrații mari de asemenea compuși în mediul lor de creștere. Tulpina *Serratia marcescens* IBB_{Po15} (KT315653) a fost izolată, prin metoda culturilor îmbogățite, dintr-o probă de șlam petrolier. *Serratia marcescens* IBB_{Po15} a tolerat prezența în mediul de cultură atât a solvenților alifatici, cât și a celor aromatici, iar solvenții alifatici au fost mai puțin toxici pentru tulpina testată, comparativ cu cei aromatici. Clusterelor formate de celulele de *Serratia marcescens* IBB_{Po15} expuse la solvenți alifatici și aromatici au fost mai bine organizate, comparativ cu clusterelor formate de celulele martor. Ca rezultat al expunerii celulelor de *Serratia marcescens* IBB_{Po15} la solvenți alifatici și aromatici apar modificări ale ratei de creștere, hidrofobicității învelișului celular, permeabilității membranei celulare și ale profilului proteic. *Serratia marcescens* IBB_{Po15} a produs surfactanți (serrawettin) și pigmenți (prodigiosin, carotenoizi), iar sinteza acestor metaboliți secundari a fost afectată de expunerea celulelor la solvenți organici. Toleranța mare a tulpinii *Serratia marcescens* IBB_{Po15} la solvenți alifatici și aromatici poate fi explicată prin existența unor gene catabolice (*alkB1*, *todM*) și a unor gene transportor (*HAE1*, *acrAB*). Absența plasmidelor dovedește faptul că, factorii de rezistență sunt localizați pe cromosom la tulpina testată. Genele *pswP*, *mpr* și *ser* au fost detectate atât la celulele martor de *Serratia marcescens* IBB_{Po15} cât și la celulele expuse la solvenți alifatici și aromatici. Expunerea celulelor de *Serratia marcescens* IBB_{Po15} la solvenți organici nu a avut ca rezultat apariția unor modificări la nivelul patern-ului ADN.

Cuvinte cheie: *Serratia*, solvenți organici, toleranță, mecanisme.

Mulțumiri: Mulțumesc Academiei Române pentru suportul financiar acordat în realizarea acestui studiu (proiect RO1567-IBB05/2016).

METODE GEOSTATISTICE PENTRU STUDIUL DIVERSITĂȚII MICROBIENE A STROMATOLITELOR DIN BAHAMAS

ALEXANDRU-IONUȚ PETRIȘOR

Școala Doctorală de Urbanism, Universitatea de Arhitectură și Urbanism „Ion Mincu”,
Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare în Construcții, Urbanism și Dezvoltare Teritorială Durabilă
URBAN-INCERC, București, România, e-mail: alexandru_petrisor@yahoo.com

1. **Context.** Studiul autecologiei și sinecologiei stromatolitelor actuale permite înțelegerea condițiilor primordiale ale vieții pe Terra, care au dus la formarea stromatolitelor fosile din Precambrian acum cca. 3 miliarde de ani. Studiul explorează, dintr-o perspectivă spațial-cantitativă, relația dintre bacteriile reducătoare de sulfați și cianobacterii, prin perspectiva procesului de litificare.

2. **Metode.** Metodologia utilizată pornește de la premisa că microscopia confocală este o formă de teledetecție și, prin analogie cu imaginile satelitare sau aerofotografele, imaginile microscopice pot fi procesate pentru a deveni obiectul unui Sistem Informațional Geografic care să evidențieze, prin folosirea tehnicilor geostatistice, relațiile dintre cele două grupe.

3. **Rezultate și concluzii.** Rezultatele acestei analize arată că cianobacteriile tind să se poziționeze cât mai aproape de suprafața expusă radiației solare, iar bacteriile reducătoare de sulfați se concentrează în imediata lor proximitate pentru a beneficia de oxigenul produs de acestea. Prin activitatea lor, bacteriile reducătoare de sulfați joacă un rol important în procesul de litificare care a dat naștere stromatolitelor fosile.

DATE PRELIMINARE PRIVIND REȚEAUA TROFICĂ MICROBIANĂ DIN LACUL SĂRAT LETEA (DELTA DUNĂRII)

*MIRELA MOLDOVEANU, IOAN ARDELEAN, ROXANA COJOC,
LARISA FLORESCU, IOANA LUCACI, SIMONA NEAGU, MĂDĂLIN ENACHE*

Institutul de Biologie București al Academiei Române, Departamentul de Microbiologie
email: mirela.moldoveanu@ibiol.ro

Rolul microorganismelor în producția primară și ciclarea nutrienților este unanim recunoscut pentru sistemele acvatice. Studiul de față se adresează unui sistem hiper-salin, lacul sărat Letea, aflat în cadrul Rezervației Biosferei Delta Dunării. Gradul de noutate al cercetărilor este ridicat, atât în ceea ce privește rețeaua trofică microbială, puțin studiată în acest tip particular de sistem, importanța habitatelor strict protejate din zonă, precum și tipul de abordare sistemic, incluzând parametri fizico-chimici *in situ* și diferite nivele trofice.

Rezultatele studiului desfășurat în perioada 2015-2016 au relevat prezența unei comunități bacteriene reprezentate prin tulpini moderat halofile sau tolerante. Până în prezent, nu s-au identificat microorganisme de tip Archaea.

Ansamblul fitoplanctonic este principalul producător de materie organică din sistem, alături de bacterii și cuprinde specii aparținând diviziunii Cyanobacteria (7 sp.), Bacillariophyceae (12 sp.) și Chlorophyceae (6 sp.). Speciile de plante acvatice superioare sunt absente, în schimb, este bine dezvoltată o comunitate de alge verzi filamentoase, cu reprezentanți din genurile: Spirogyra, Ulothrix, Cladophora.

În termeni de abundență (nr. celule L^{-1}), cloroficeele și cianobacteriile au fost dominante în special în sezonul cald, în timp ce algele diatomee au proliferat toamna.

Comunitatea zooplanctonică, principalul nivel de consumatori din sistem, prezintă valori ridicate din punct de vedere al bogăției specifice în perioada de primăvară, atunci când apele sunt crescute datorită precipitațiilor, urmând ca spre toamnă să descrească progresiv, odată cu reducerea suprafeței lacului și creșterea salinității (valoarea maximă 43 PSU).

Studii ulterioare se vor concentra pe caracterizarea diversității microorganismelor din lacul sărat Letea prin metode clasice și moderne, identificarea și cuantificarea principalelor componente ale buclei microbiene, precum și rolul acestora în funcționalitatea ecosistemului.

CONSTRUIREA REȚELEI DE INTERACȚIUNI ÎNTRE UNELE PROTEINE IMPLICATE ÎN ANGIOGENEZA NEOPLAZIILOR DE FARINGE

MARIAN CONSTANTIN¹, LIGIA GABRIELA GHEȚEA²

¹Institutul de Biologie București al Academiei Române; Institutul de Cercetări al Universității din București-ICUB, Secțiunea Științele Vieții, Mediului și Pământului

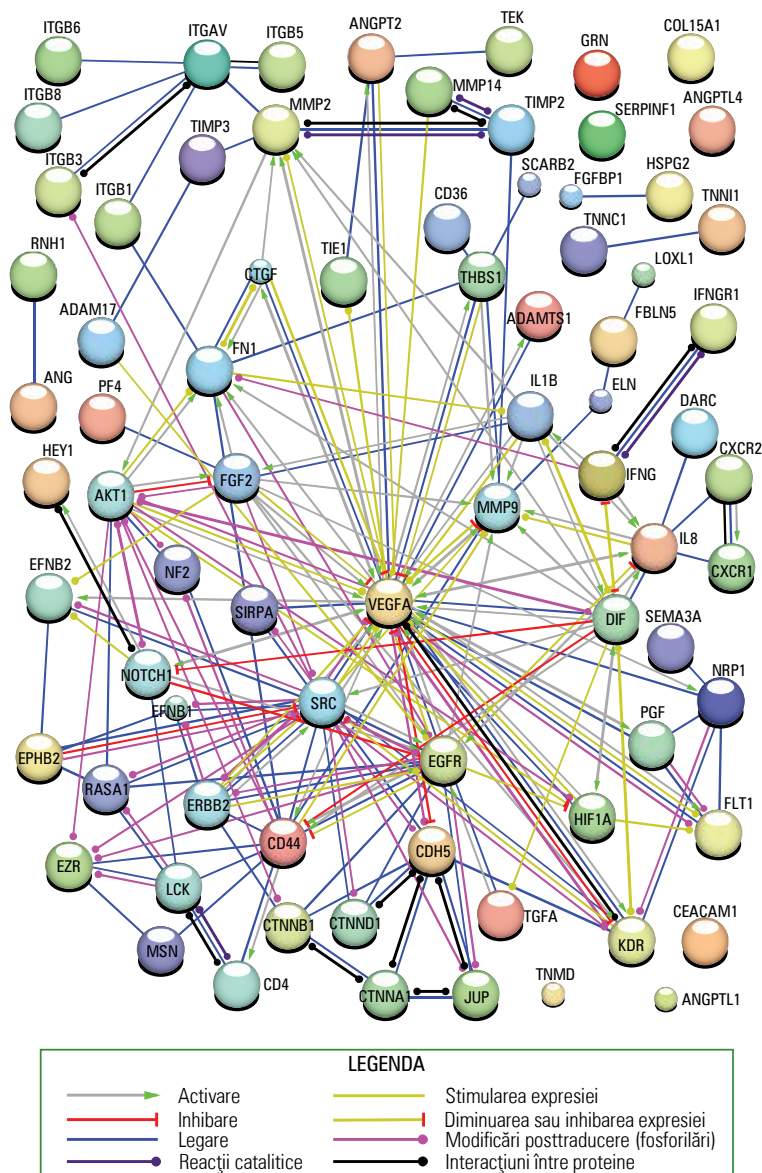
²Universitatea din București, Facultatea de Biologie, Departamentul de Genetică

Angiogeneza (formarea unor noi vase de sânge, din cele existente, prin înmugurire, prin activarea celulelor epitaliale vasculare, sub influența unor factori proteicici sintetizați de celulele aflate în fază de hipoxie) este unul dintre procesele-cheie în malignizarea tumorilor, pentru că, prin formarea noilor vase de sânge, este permisă oxigenarea neoplaziei, care începe să crească, dar acestea constituie calea de acces principală pentru celulele transformate, în căutarea noilor situsuri de metastazare. Pentru a reduce amplitudinea angiogenezei tumorale și, implicit, creșterea și metastazarea neoplaziilor, au fost inițiate numeroase studii și experimente, unele orientate ținut, asupra unor molecule angiogenice, pentru a le inhiba activitatea, sau asupra unor molecule angiostatice, pentru a le amplifica activitatea, pe când altele, de generație mai nouă, încearcă să găsească metode de înțelegere a dezvoltării și a existenței tumorii, ca subsistem în interiorul organismului.

În acest sens, am inițiat un studiu combinat, experimental și de bioinformatică, pentru a determina care sunt relațiile dintre 92 de produși de exprimare genetică, în tumorile de faringe. Cu acordul scris al unui pacient, a fost preluat un fragment de țesut tumoral de la acesta, fragment din care a fost extras ARNm. Acesta a fost copiat în ADNc, folosind reverstranscriptaza din kit-ul *High Capacity cDNA Reverse Transcription* (part no. 4374966) produs de firma *Applied Biosystems*, și, apoi, analizat prin metoda de marcarea *TaqMan*[®] (de la *Applied Biosystems*), bazată pe activitatea 5' exonucleazică a *AmpliTaqGold Polimerazei*. Pentru analiza nivelului de exprimare a celor 92 de gene, au fost utilizate plăcuțe *TaqMan Array 96-Well Plates Gene Signature for Human Angiogenesis*, produse de firma *Applied Biosystems*, cu 96 de godeuri, preîncărcate cu amorse marcate fluorescent pentru 92 de gene implicate, prin produșii lor, în angieneză, în ordinea indicată în tabelul următor:

	A	B	C	D	E	F	G	H
12	ANGPT2	TYMP	THBS1	AMOT	ANGPTL2	FIGF	ANGPT4	PROX1
11	ANGPT1	MDK	FBLN5	ANGPTL1	TIMP3	ENPP2	CHGA	EDG1
10	ANG	LEP	CTGF	ADAMTS1	TIMP2	KDR	BAI1	NRP1
9	MMP2	IL8	VEGFC	VASH1	TNMD	NRP2	F2	FLT4
8	PRL	HGF	VEGFB	PF4	TIE1	TNNI1	COL4A3	PDGFRB
7	SERPINC1	FST	VEGFA	SERPINF1	TEK	KIT	FN1	PDGFRA
6	PLG	FGF4	TNF	IL12A	SEMA3F	LYVE1	COL18A1	ITGB3
5	FGA	FGF2	TGFB1	CXCL10	FLT1	PECAM1	HSPG2	ANGPTL4
4	GUSB	FGF1	TGFA	IFNG	SERPINB5	ITGAV	COL15A1	LECT1
3	HPRT1	EPHB2	PROK1	IFNB1	CXCL2	HEY1	COL4A2	THBS2
2	GAPDH	EDIL3	PTN	ITGA4	CDH5	CEACAM1	COL4A1	GRN
1	18S	CXCL12	PDGFB	TNFSF15	CD44	ANGPTL3	FOXC2	CSF3

0	Gene „housekeeping”	Gene angiogenice	Gene ambivalente	Gene angiostatice
---	---------------------	------------------	------------------	-------------------



Datele au fost analizate cu programul *Data-Assist™ v. 3.01* (Applied Biosystems), utilizând metoda *CT comparative* ($\Delta\Delta Ct$), și, după determinarea nivelului de exprimare, proteinele supra-exprimate au fost incluse, ca noduri, într-o rețea de interacțiuni, construită cu programul *String*, de pe site-ul *www.string-db.org*, rețea ilustrată în figura alăturată.

Această rețea indică, la nivel predictiv, *in silico*, modul de interacțiune dintre proteinele ale căror amorse sunt conținute în plăcuțele *Taq-Man Array 96-Well Plates Gene Signature for Human Angiogenesis*, de la care pot fi construite metode de modulare a exprimării unor dintre aceste proteine (de exemplu, poate fi exploatată calea diminuării exprimării VEGFA,

prin acțiunea THBS1), metode care pot fi testate, ulterior, *in vitro*, apoi *in vivo*, pentru ca, în final, să poată constitui punct de plecare pentru o terapie genică antitumorală, cu acțiune țintită.

Pe această cale, mulțumim domnului doctor D.A. Manu, de la *Secția de ORL a Spitalului Județean de Urgență Ilfov*, pentru furnizarea materialului biologic, domnului B.C. Iancu, de la *Institutul Național de Medicină Legală „Mina Minovici”*, și doamnei D. Iancu, de la *Centrul de nefrologie a Royal Free Hospital al University College London*, pentru sprijinul oferit în timpul interpretării rezultatelor.

MONITORIZAREA STĂRII DE CONSERVARE A BIODIVERSITĂȚII EXISTENTE ÎN DIFERITE AREALE GEOGRAFICE ALE ROMÂNIEI

OLIVIA CIOBOIU¹, CARMEN MĂDĂLINA CISMAȘIU², IOAN PĂCEȘILĂ³

¹Muzeul Olteniei Craiova, Secția de Științele Naturii, e-mail oliviacioboiu@gmail.com

²Institutul de Biologie București al Academiei Române, Departamentul de Microbiologie, e-mail: carmen.cismasiu@ibiol.ro, madalinabio@yahoo.com

³Institutul de Biologie București al Academiei Române, Departamentul de Ecologie, Taxonomie și Conservarea Naturii, e-mail: ioan.pacesila@ibiol.ro

Evaluarea biodiversității comunităților de organisme prezente în ecosistemele naturale și antropizate are o importanță deosebită în contextul global al dispariției a numeroase specii de organisme ca urmare a activității umane. Din cauza modificărilor induse de om în habitatele naturale, în prezent identificarea și protejarea speciilor naturale reprezintă o prioritate internațională.

Acest rezumat prezintă mai multe cercetări efectuate în ecosistemele acvatice, lentic și lotice, din zonele inundabile ale Dunării în sectorul oltean și sistemul bazinal de câmpie Valea Preajba, precum și din zone naturale și antropizate ale brațului Sfântu Gheorghe. Aceste cercetări demonstrează importanța spațiului danubiano-carpatic în conservarea biodiversității specifice.

În sectorul oltean, conform rezultatelor, algele au avut cea mai mare diversitate, dominante fiind bacilarioficeele și cloroficeele. Macrofitele palustre și acvatice au ocupat un loc important în bioeconomia ecosistemelor din zonele studiate. Studiile asupra faunei au relevat existența a 24 grupe de nevertebrate, dominante fiind protozoare, rotifere, copepode, cladocere, oligochete, gastropode, bivalve, amfipode, odonate, chironomide. În aceste ansambluri ecosistemice, speciile de gastropode au un rol important printre consumatori, ele reprezentând un factor de acumulare, precum și transfer de masă și energie către consumatorii de ordin superior, cum sunt peștii. Speciile de *Viviparus acerosus*, *Radix balthica* și *Lymnaea stagnalis* reprezintă puncte de reper privind tipul de contaminare al arealelor industriale din sectorul oltean al Dunării (Km 811-661), precum și factori determinanți în acumularea de ioni metalici bivalenți, respectiv Cu^{2+} și Cd^{2+} .

Au mai fost evidențiate diferențe semnificative între concentrațiile de metale grele din apă, sedimente și masa de carne a speciilor de nevertebrate existente în acestea. Concentrațiile de Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} și Fe^{2+} din apa lacurilor Preajba în Câmpia Olteniei au fost găsite sub limita de detecție (0,001 – 0,01 mg/l). Din experimentele analizate s-a demonstrat că bioacumularea este puternic influențată de concentrația de ioni metalici prezentă în sedimente. În acest sens, s-a emis ipoteza că astfel de modele de acumulare și transfer HM (Cioboiu & Cismașiu, 2016) în biotă pot fi utilizate ca amprentă digitală biochimică pentru depistarea și caracterizarea riscurilor de contaminare a ecosistemelor acvatice din Câmpia Olteniei. În categoria microorganismelor capabile să îndepărteze ionii metalici menționăm bacteriile heterotrofe din genul *Acidiphilium* prin procese de biosorbție (Cismașiu et al., 2016).

În sectoarele Brațului Sfântu Gheorghe a fost evidențiată prezența, în probele de apă și de sediment, a numeroase grupuri fiziologice de microorganisme heterotrofe implicate în circuitele biogeochimice ale C, N și S. Acestea au înregistrat variații spațio-temporale semnificative ale densității numerice, în funcție de prezența substratului organic și de dinamica parametrilor fizico-chimici (Păceșilă, 2013).

Rezumatul este o parte componentă a convenției de colaborare numerele 1797 / 20.05.2015 respectiv 1402 / 21.05.2015 dintre Institutul de Biologie București, Departamentul de Microbiologie și Muzeul Olteniei Craiova, Secția de Științele Naturii, având ca temă: Biodiversitatea microbiotei din areale cu contaminare industrială ale Olteniei și potențiale aplicații biotehnologice în scopul diminuării acesteia. De asemenea, o parte dintre rezultate au fost obținute în cadrul proiectelor RO1567-IBB02 și RO1567-IBB05 ale Institutului de biologie București al Academiei Române.

DIVERSITATEA STRUCTURALĂ ȘI FUNCȚIONALĂ A BACTERIILOR ACIDOFILE DIN MEDII POLUATE ÎN VEDEREA RECUPERĂRII UNOR METALE DIN ZONELE AFECTATE ALE CÂMPIEI OLTENIEI

CARMEN MĂDĂLINA CISMAȘIU¹, NICOLAE TOMUȘ², OLIVIA CIOBOIU³

¹ Institutul de Biologie București al Academiei Române, Departamentul de Microbiologie, e-mail: carmen.cismașiu@ibiol.ro, madalinabio@yahoo.com

² Institutul Național de Cercetare – Dezvoltare pentru Metale și Resurse Radioactive – ICPMRR București, tomnic90@yahoo.fr

³ Muzeul Olteniei Craiova, Secția de Științele Naturii, e-mail oliviacioboiu@gmail.com

Un domeniu mult abordat la nivel internațional cu aplicații practice imediate este cel al utilizării microorganismelor în recuperarea unor metale pe cale microbiologică. Această metodă se poate aplica minereurilor și concentratelor sărace precum și unor deșeuri miniere care se acumulează în timp și nu pot fi prelucrate prin metode hidro-metalurgice clasice (Tomuș & Cismașiu, 2014; Cîrstea et al., 2015; Ștefănescu et al., 2016).

Bacteriile chemolitotrofe acidofile din genul *Acidithiobacillus*, sulf- și fier-oxidante, au un metabolism versatil deoarece eliberează compuși organici în mediul de cultură care se pot acumula în cantități inhibitoare pentru creșterea bacteriană. În acest sens, bacteriile heterotrofe din genul *Acidiphilium* pot înlătura această inhibare, prin metabolizarea materialelor organice. Acest fenomen este motivul pentru care culturile mixte de bacterii acidofile fier-oxidante și heterotrofe au o capacitate mai mare de leșiere a minereurilor, în comparație cu culturile pure (Cismașiu, 2010; 2014). Activitatea lui *Acidithiobacillus ferrooxidans* în ceea ce privește oxidarea fierului feros poate fi controlată prin mai mulți parametri: producere de H₂SO₄, scădere de pH, consum de CO₂, creșterea biomasei sau direct prin măsurarea trecerii Fe²⁺ în Fe³⁺. Schimbarea valenței fierului feros poate fi măsurată prin schimbarea potențialului redox care este un indicator bun pentru determinarea microorganismelor și permite studierea fiziologiei lor (Cismașiu, 2005).

Mutualismul are o semnificație ecologică deosebită deoarece activitatea metabolică și limitele de toleranță fiziologică ale populației de bacterii acidofile implicate în relații mutualiste sunt foarte diferite de cele ale populației individuale. În cazurile mediilor acide asocierea este atât de strânsă încât populațiile de microorganisme asociate se comportă ca o populație unitară. În acest context, comunitățile naturale de microorganisme formate dintr-o mare varietate de specii care trăiesc în comun, frecvent ca populații dense, sunt relativ stabile și greu de perturbat. În procesul de solubilizare al ionilor metalici un rol important revine bacteriilor heterotrofe aerobe și fungilor, care are la bază eliminarea în mediu a acizilor organici, precum și a unor produși de metabolism, care împreună cu aceștia formează compuși solubili în apă. Un exemplu de mutualism în ecosistemele industriale este ciclul fierului între bacterii chemolitotrofe sulf- și fier-oxidante (ce folosesc fierul drept donor de electroni) și bacterii heterotrofe fier-reducătoare (ce folosesc fierul drept acceptor de electroni) în situațiile în

care concentrațiile de oxigen dizolvat variază spațial sau temporal (Cismașiu, 2012; Cismașiu et al., 2015).

Microorganismele autohtone se opun dezechilibrului produs de modificările ecologice temporare (de exemplu, deversarea de ape reziduale industriale în sol sau în ape naturale). În reducerea dezechilibrului la normal intervin procese homeostazice realizate de consumatori. Efectele defavorabile ale metalelor grele asupra ecosistemului acvatic se manifestă: (1) cantitativ: reducerea transparenței apei și colmatarea filtrelor la captări, (2) chimic: modificarea nivelului de O_2 , CO_2 , pH-ului și apariția condițiilor acidofile, (3) biologic: modificarea structurii biocenozei (Cioboiu & Cismașiu, 2016).

PROCEDEE COMBINATE DE REDUCERE A CONȚINUTULUI DE SULF ANORGANIC DIN CĂRBUNE PENTRU UTILIZAREA ÎN APLICAȚII DE REMEDIERE A MEDIULUI ÎNCONJURĂTOR

NICOLAE TOMUȘ¹, CARMEN MĂDĂLINA CISMAȘIU², ȘTEFANIA ELENA DEĂK²

¹Institutul Național de Cercetare – Dezvoltare pentru Metale și Resurse Radioactive –ICPMRR
București, tomnic90@yahoo.fr

²Institutul de Biologie București al Academiei Române, carmen.cismasiu@ibiol.ro,
madalinabio@yahoo.com.

³CIT-IRECSON București, stef.deak@yahoo.com

Cărbunile, încă cea mai importantă sursă de energie, de origine fosilă¹, se folosește cu precădere drept combustibil solid în termocentrale. Efectele arderii cărbunelui în termocentrale are consecințe negative asupra mediului înconjurător prin accentuarea efectului de seră, producerea ploilor acide datorită emisiilor de dioxid de sulf, precum și prin creșterea concentrației de praf, cenușă și fum în atmosferă.

Dioxidul de sulf este o substanță toxică, care își face simțită prezența prin miros, începând de la 2 ÷ 5 miligrame la normal metru cub¹ (mg/Nm³) și acțiunea iritantă asupra mucoaselor căilor respiratorii, începând de la 6 ÷ 13 mg/Nm³. La concentrații ridicate, de 50 mg/Nm³ încep să se producă intoxicații, iar la concentrația de 1g/m³ efectele sunt mortale.

Cercetările autorilor s-au concentrat asupra desulfurizării cât mai avansate a cărbunelui energetic în faza de precombustie, în conformitate cu HG nr. 541/2003² și Directiva UE 2001/80³, care prevăd valori maxime ale emisiilor de dioxid de sulf de 400 mg/Nm³. În acest context s-au studiat și experimentat metode combinate, care în prima fază au urmărit separarea piritei de cărbune, după care s-a continuat cu leșierea microbiologică.

Studiul de caz s-a realizat pe cărbunii indigeni de tipul huilei și lignitului, proveniți din Valea Jiului (Paroșeni), Halânga și Turceni, înainte ca aceștia să fie introduși în termocentrale. Tehnologia cuprinde operația de mărunțire, urmată de procedee de concentrare fizică reprezentate de separarea magnetică combinată cu cea hidrogravitațională și apoi procedeul de leșiere microbiologică prin folosirea bacteriilor chemolitotrofe acidofile, fier- și sulf-oxidante, de tipul *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

Cele mai bune rezultate s-au obținut la eliminarea sulfului, de până la 38%, prin procedee de separare magnetică în câmp intens în mediu uscat și în mediu umed (însoțită și de eliminarea unei părți din mineralele purtătoare de fier din cărbune), com-

¹ Kovács, F (2013) – Do climatic causes justify primary fuel rates in electricity productions?, *Editorial – Buletin CENTIREM, Nr. 7, ISSN 1584-1065, Ed. Universitas, p. 3-16.*

² Hotărârea Guvernului nr. 541/17 mai 2003 privind limitarea emisiilor în aer ale anumitor poluanți proveniți din instalațiile mari de ardere, Monitorul Oficial nr. 36529, mai 2003

³ Directive 2001/80/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2001 on the limitation of emissions of certain pollutants into the air from large combustion plants, *Official Journal L 309, 27/11/2001 P. 0001 – 0021*

binată cu acțiunea bacteriilor sulfat reducătoare de tipul *Acidithiobacillus ferrooxidans*, ce a favorizat o reducere suplimentară a conținutului de sulf anorganic cu până la 70% din conținutul pe care l-a avut cărbunele la intrarea în acest proces de biooxidare controlată.

¹ Volumul de substanță gazoasă care, la temperatura de 0°C și presiunea absolută de 1,01325 bari, atunci când nu există vapori cu conținut de apă, ocupă un volum de un 1 m³

PROGRAM: Parteneriate în Domenii Prioritare

TIPUL PROIECTULUI: PCCA-Tipul 1

COD PROIECT: PN-II-PT-PCCA-2011-3.1-0621

NR. CONTRACT: 105/2012

TITLUL PROIECTULUI: SELECTAREA UNOR NOI TULPINI FUNCȚIONALE DE BACTERII LACTICE IZOLATE DIN MATERIALE VEGETALE, CU APLICAȚII ÎN BIOTEHNOLOGIILE ALIMENTARE (PLANTLAB)

COORDONATOR: Institutul de Biologie București

PARTENERI: Universitatea din București
Centrul de Biochimie Aplicată și Biotehnologie

DIRECTOR PROIECT: Dr. Medana Zamfir (IBB)

VALOAREA TOTALĂ: 2.000.000 lei

VALOAREA IBB: 800.000 lei

PAGINA INTERNET: <http://www.ibiol.ro/proiecte/PNII/PLANTLAB/index.htm>

SELECTAREA UNOR NOI TULPINI FUNCȚIONALE DE BACTERII LACTICE IZOLATE DIN MATERIALE VEGETALE, CU APLICAȚII ÎN BIOTEHNOLOGIILE ALIMENTARE (PLANTLAB)

Fructele și legumele proaspete și/sau fermentate, respectiv cerealele fermentate (de exemplu borșul), reprezintă o parte importantă a dietei zilnice în România, alături de alimentele de origine animală. Din păcate, fructele și legumele proaspete au o perioadă de valabilitate redusă, datorită faptului că au un conținut ridicat de apă și nutrienți, care favorizează dezvoltarea de bacterii, drojdii, mucegaiuri, unele dintre acestea producătoare de toxine sau spori alergeni, punând serioase probleme legate de sănătatea consumatorilor.

Siguranța și calitatea alimentelor se bucură în prezent de o atenție deosebită pe plan internațional, iar cercetarea științifică în acest domeniu a devenit recent o prioritate, inclusiv în Strategia Națională a Cercetării din România. Mai mult, consumatorii au devenit foarte atenți la alimentație, la modul în care alimentele le afectează sănătatea și sunt în permanentă căutare de diversitate, de alimente cu un gust mai bun, mai puțin procesate și cu cât mai puțini aditivi și conservanți.

Pentru a contracara efectele negative ale agenților microbieni dăunători, atât pentru fructele sau legumele proaspete, cât și pentru alimentele fermentate, se pune tot mai mult problema găsirii unor alternative naturale, de conservare biologică, folosind, în loc de aditivi chimici, microorganisme capabile să controleze microbiota nedorită din alimente.

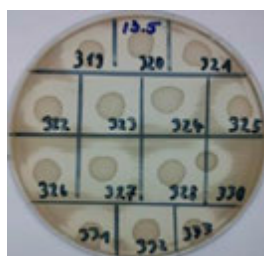
În acest context, prin proiectul de față ne-am propus izolarea de noi bacterii lactice din diferite surse de natură vegetală, puțin explorate la noi în țară (flori, fructe și legume proaspete și fermentate, borș) și selectarea de tulpini funcționale, cu potențial biotehnologic (în principal activitate antibacteriană și antifungică, producerea de bacteriocine și exopolizaharide).

În prima etapă a proiectului au fost izolate, pe de o parte bacterii lactice (210 izolate), pe de altă parte bacterii (51 izolate) și fungi (32 izolate) din microbiota contaminantă, folosind ca sursă de izolare material de origine vegetală, în special fructe și legume proaspete și fermentate, flori și borș. Microorganismele izolate au fost identificate preliminar și depuse în colecțiile de laborator ale partenerilor implicați în proiect.



Surse de izolare a bacteriilor lactice

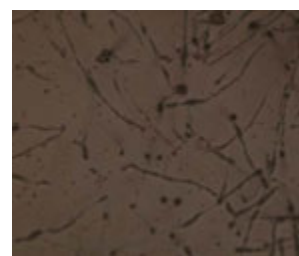
În continuare, s-a trecut la testarea bacteriilor lactice izolate în cursul primei etape, în vederea selectării de tulpini funcționale. S-a testat efectul antibacterian față de o gamă variată de bacterii (atât alte bacterii lactice, cât și alte bacterii Gram-pozitive și Gram-negative, inclusiv tulpini de bacterii fitopatogene). Activitatea antimicrobiană a bacteriilor lactice a fost corelată, în special, cu producerea de acizi organici și doar în cazul unui număr mic de tulpini (trei) aceasta a fost corelată cu biosinteza de bacteriocine; acestea sunt termosensibile, au masa moleculară mare (peste 30 KDa) și un spectru de acțiune foarte limitat, aparținând, cel mai probabil, clasei a III-a, a bacteriocinelor mari, termosensibile.



Activitatea antibacteriană a unor bacterii lactice



Activitatea antifungică



Modificări la nivelul hifelor miceliene

Mediul optim pentru creștere și producere de bacteriocine a fost mediul MRS cu glucoză sau zaharoză; în anumite condiții de cultivare, deși creșterea a fost redusă, activitatea bacteriocinelor a fost similară sau chiar superioară matorului (de exemplu în lapte, în MRS conținând CaCO_3 sau săruri biliare). Unele condiții de stres (NaCl 1%) au stimulat producerea de bacteriocine. Tulpinile testate au avut capacitatea de a crește și de a produce bacteriocine în medii conținând prebiotice sau exopolizaharide bacteriene. Rezultatele obținute ne conduc la ideea că cele trei tulpini producătoare de bacteriocine, studiate de noi, au potențial pentru a fi folosite ca probiotice (activitatea mare în prezența sărurilor biliare) sau în industria alimentară (activitate mare în lapte, în prezența de NaCl etc.). Mai mult, activitatea antibacteriană este stimulată de unele prebiotice sau polizaharide potențial prebiotice.

Efectul antifungic a fost testat față de un număr mare de tulpini fungice, izolate din diferite surse, în special de natură vegetală (fructe, legume, cereale), inclusiv tulpini producătoare de micotoxine. Peste 35% dintre bacteriile lactice testate au manifestat o acțiune inhibitoare față de cel puțin o tulpină fungică testată; cel puțin 7 dintre tul-

pinile testate au fost capabile să inhibe dezvoltarea fungilor din genul *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. niger*, *A. ochraceus* și *A. oryzae*), precum și producerea de micotoxine.

Prin examinarea la microscopul optic a interacțiunilor antagoniste manifestate de tulpinile de bacterii lactice au fost observate unele alterări ale hifelor miceliene, precum: fragmentări, liza pereților celulari și scurgerea conținutului citoplasmatic, răsucirea terminațiilor de creștere miceliană pentru evitarea contactului cu tulpinile antagoniste etc.

Efectul antifungic pare să fie corelat, în principal, cu producerea de acizi organici, printre care: acid lactic, acid acetic, acid fenilactic și acid hidroxifenilactic. Există, însă, tulpini care, deși sintetizează cantități reduse de acizi organici, prezintă totuși o bună acțiune antifungică față de anumite tulpini de interes, ceea ce înseamnă că efectul inhibitor se datorează altor mecanisme (cel mai probabil producerea de bacteriocine sau alți compuși peptidici inhibitori). Mai mult, au fost selectate tulpini bacteriene capabile să reducă nivelul de deoxinivalenol (DON) din mediul de cultură, prin legarea acestuia la suprafața celulară sau prin alte mecanisme (de exemplu degradare).

De asemenea, au fost selectate tulpini producătoare de biosurfactanți, atât legați la nivelul celulelor, cât și excretați în mediul de cultură. Preparatele de biosurfactanți obținute au evidențiat activitate antimicrobiană, ceea ce sugerează posibila implicare a acestor compuși în activitatea bacteriilor lactice selectate de inhibare a unor fungi fitopatogeni sau potențial micotoxigeni.



Pentru evaluarea efectului antifungic și de protecție al bacteriilor lactice au fost realizate două modele experimentale, și anume: 1) analiza activității antifungice prin modele experimentale in vitro pe substraturi nutritive pe bază de piureuri din fructe sau legume și 2) analiza activității antifungice față de *Penicillium expansum* prin modele experimentale ex vivo pe fructe de măr. În primul model experimental s-a evidențiat faptul că efectul inhibitor față de *Alternaria* sp., *Botrytis cinerea* și *Rhizoctonia solani* a fost clar doar în cazul mediului cu tomate. Pe mere nerănite și tratate cu bacterii lactice, efectul protector al acestora este evident pentru majoritatea tulpinilor bacteriene testate.

Producerea de exopolizaharide a fost evidențiată folosind diferite metode, cum ar fi: evidențierea caracterului mucoid al coloniilor dezvoltate pe mediu solid, tehnici de cromatografie lichidă și izolarea polimerilor prin precipitarea cu acetonă. Păisprezece tulpini de bacterii lactice au fost selectate datorită capacității de a produce exopolizaharide.

Polimerii sunt produși în cantități variabile, până la aproximativ 20 g/l, au masa moleculară mare (peste 1.400 KDa) și, cel mai probabil, sunt homopolizaharide, alcătuite din monomeri de glucoză. De asemenea, a fost măsurată vâscozitatea culturilor obținute în mediile pe bază de lapte și lapte de soia. Considerăm că tulpina cu



Colonii de bacterii lactice producătoare de exopolizaharide



Legume fermentate în laborator



Borș obținut în laborator

potențialul aplicativ cel mai mare este *L. mesenteroides* 109, deoarece produce cele mai mari cantități de EPS în toate mediile testate, iar vâscozitatea culturilor obținute cu această tulpină a fost maximă, în special în mediile pe bază de lapte de soia (potențiale aplicații în produse vegetariene). Mai mult, unele dintre EPS selectate au potențial prebiotic, fiind rezistente la pH scăzut (2.0), la acțiunea pepsinei și pancreatinei, și putând fi utilizate ca unică sursă de carbon de către unele bacterii lactice cu efect antibacterian.

Tulpinile de interes au fost identificate la nivel de specie, folosind tehnici de biologie moleculară. Acestea aparțin, în principal, genului *Lactobacillus* (diferite specii, majoritatea *L. plantarum*) și speciei *Leuconostoc mesenteroides* (tulpinile producătoare de EPS). Identificarea a permis și unele concluzii legate de implicarea bacteriilor lactice în fermentarea borșului, a cărui diversitate microbiană nu era cunoscută. Bacteriile lactice izolate din probele de borș colectate din diferite surse aparțin, în principal, speciei *Lactobacillus amylolyticus* și altor specii de lactobacili.

În cazul tulpinilor producătoare de bacteriocine a fost testată rezistența acestora la îngheț și liofilizare, etape care fac parte din metodele tehnologice de obținere/păstrare a probioticelor/culturilor starter. În general, s-a constatat că mediile pe bază de lapte sunt optime pentru menținerea viabilității celulelor supuse acestor tratamente. Este important de observat că toate variantele de celule care și-au păstrat viabilitatea și-au păstrat și capacitatea de a produce bacteriocine.

În ultima etapă a proiectului au fost realizate experimente vizând utilizarea unor tulpini bacteriene selecționate în cursul proiectului pentru obținerea de alimente fermentate în condiții de laborator (borș, murături). Rezultatele vor fi incluse într-o propunere de brevet.

Rezultatele obținute în cadrul acestui proiect au fost publicate în 5 articole în reviste cotate ISI, 5 articole în reviste indexate BDI sau alte reviste și prezentate oral sau sub formă de poster la 10 conferințe naționale sau internaționale.

PROGRAM: Parteneriate în Domenii Prioritare

TIPUL PROIECTULUI: PCCA-Tipul 1

COD PROIECT: PN-II-PT-PCCA-2011-3.1-0969

NR. CONTRACT: 77/2012

TITLUL PROIECTULUI: CERCETĂRI INOVATIVE, MULTIDISCIPLINARE DE INVESTIGARE A EFECTELOR PROBIOTICE ALE UNOR NOI TULPINI DE BACTERII LACTICE ȘI CONSORȚII (PROLAB)

COORDONATOR: Universitatea din București

PARTENERI: Institutul de Biologie București
Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare
pentru Științe Biologice București
Universitatea de Științe Agronomice
și Medicină Veterinară București

DIRECTOR PROIECT: Conf. Dr. Diana Pelinescu (UB)

RESPONSABIL PROIECT: Dr. Medana Zamfir (IBB)

VALOAREA TOTALĂ: 2.000.000 lei

VALOAREA IBB: 400.000 lei

PAGINA INTERNET: <http://genetmicroproiecte.blogspot.ro/2015/12/prolab-77-2015.html>

CERCETĂRI INOVATIVE, MULTIDISCIPLINARE DE INVESTIGARE A EFECTELOR PROBIOTICE ALE UNOR NOI TULPINI DE BACTERII LACTICE ȘI CONSORȚII (PROLAB)

Rezistența/multirezistența la antibiotice a tulpinilor bacteriene reprezintă o problemă majoră de sănătate publică atât în România cât și la nivel mondial. În România există o tendință de creștere a incidenței infecțiilor cu tulpini bacteriene înalt rezistente la antibiotice, tendință accentuată și de producerea de biofilme bacteriene la nivelul țesuturilor sau al biomaterialelor utilizate în medicină. În țara noastră, problema dezvoltării de strategii alternative de prevenire și tratament a infecțiilor cu tulpini bacteriene multirezistente sau formatoare de biofilme, este mai puțin studiată, în ciuda potențialului aplicativ ridicat în biomedicină, cât și a utilității acestor strategii în refacerea microbiotei normale după impactul negativ al administrării de antibiotice. Una dintre alternativele la tratamentele convenționale este reprezentată de utilizarea produselor probiotice, care prin administrare în cantități adecvate conferă efecte benefice sănătății umane. Pentru utilizarea optimă a microorganismelor probiotice este necesară înțelegerea mecanismelor prin care acestea acționează. Selecția unei tulpini în vederea includerii ei într-un preparat probiotic trebuie realizată pe baza capacității acesteia de a induce o îmbunătățire a răspunsului organismului gazdei fără a modifica însă homeostazia intestinală. Obiectivul principal al acestui proiect implică realizarea de studii complexe asupra tulpinilor bacteriene cu potențial probiotic (bacterii lactice nou izolate) și a consorțiilor bacteriene, în vederea îmbunătățirii protocoalelor experimentale privind selecția optimă a probioticelor pentru uz uman, pe baza activității antiinfecțioase și imunomodulatoare a acestora.

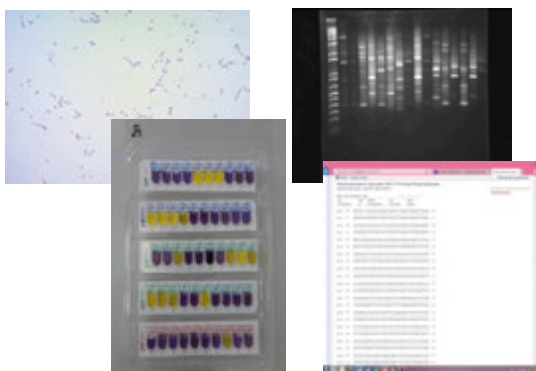


Surse de izolare a bacteriilor lactice

În prima etapă a proiectului a fost obținută o minicolecție de 224 tulpini nou izolate de bacterii lactice din nișe ecologice specifice, caracterizarea acestora și încadrarea taxonomică preliminară.

Sursele de izolare au fost foarte variate și au acoperit un larg spectru ecologic, fiind reprezentate de: fecale de nou-născut, lapte, produse alimentare fermentate etc.

Pentru caracterizarea și încadrarea taxonomică preliminară tulpinile izolate și purificate au fost analizate din punct de vedere morfologic (aspect microscopic și macroscopic), fiziologic (creșterea la diferite valori de temperatură și halotoleranța) și biochimic (producerea de catalază, producerea de acizi organici, capacitatea de metabolizare a diferitelor surse de carbon).



Metode de identificare a bacteriilor lactice

Ulterior, pentru confirmarea statutului taxonomic, aceste tulpini au fost analizate cu ajutorul kiturilor standardizate API, a sistemului BIOLOG, iar tulpinile de interes au fost identificate prin metode moleculare (rep-PCR, secvențializarea ARNr 16S etc.). Tulpinile de bacterii lactice izolate au fost identificate ca aparținând, în principal, genurilor: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* și *Pediococcus*.

În continuare, din tulpinile lactice izolate, au fost selectate cele cu potențial probiotic, folosind atât metode convenționale, cât și metodologii moderne. Cercetările au vizat: determinarea *in vitro* a siguranței utilizării tulpinilor selectate ca probiotice pentru sănătatea umană; evaluarea calitativă și cantitativă a activității antimicrobiene față de microorganisme enteropatogene; analiza interacțiunilor dintre tulpinile de bacterii lactice și celule eucariote epiteliale; caracterizarea compușilor biologic activi produși și testarea *in vitro* a rezistenței tulpinilor de bacterii lactice în condiții similare celor de la nivelul tractului gastrointestinal.

Un aspect deosebit de important analizat în această etapă a fost stabilirea măsurii în care tulpinile de bacterii lactice selectate sunt sigure pentru sănătatea umană și corespund criteriilor ghidului FAO/WHO. Astfel, aproximativ 30% dintre tulpinile de bacterii lactice luate în studiu au prezentat activitate hemolitică redusă după 48h, ceea ce a condus la excluderea acestora din studiu. Datorită posibilității apariției fenomenelor de transfer al genelor de rezistență la antibiotice la alte tulpini patogene,

a fost analizat spectrul de sensibilitate la antibiotice. S-a constatat că majoritatea tulpinilor analizate prezintă sensibilitate la cloramfenicol și rezistența la kanamicină. În plus, 50% dintre tulpini nu prezintă rezistență la antibiotice precum ampicilină, tetraciclină, eritromicină și gentamicină, rezistență cunoscută ca fiind determinată de o serie de gene situate la nivelul unor elemente transpozabile sau plasmide.

Efectele benefice ale bacteriilor lactice se bazează pe sinteza de compuși biologic activi, dintre care unii sunt esențiali pentru acțiunea lor antimicrobiană. Analizele efectuate au evidențiat faptul că majoritatea tulpinilor selectate prezintă activitate antimicrobiană față de tulpinile patogene implicate în producerea de infecții gastrointestinale, pentru trei dintre acestea fiind corelată cu biosinteza de bacteriocine. Toate tulpinile de bacterii lactice testate au produs acid lactic și acid acetic în concentrații mari, iar o tulpină biosintetizează chiar o gamă largă de acizi organici (acid butiric, acid fenilactic, acid hidroxifenilactic, acid succinic, acid malic și acid formic).

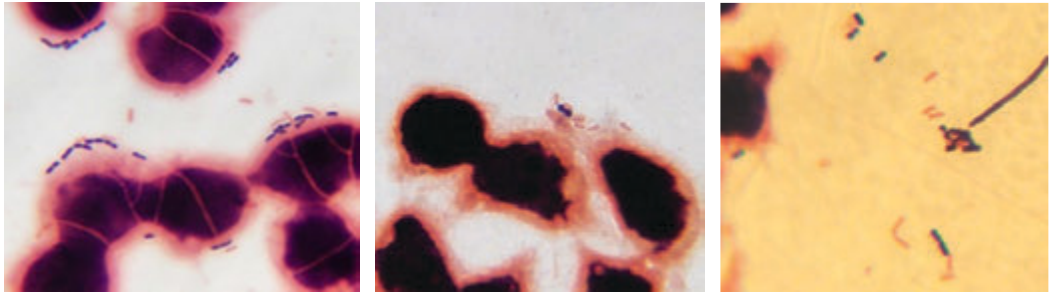
Un criteriu de selecție a tulpinilor probiotice este reprezentat de evaluarea capacității acestora de a adera și de a interacționa cu celulele organismului gazdă, ceea ce permite microorganismelor de tip probiotic să colonizeze tractul digestiv și să-și exercite efectele benefice pentru o perioadă mai lungă de timp. Sudiile efectuate pe linia celulară HTC-8 au arătat că tulpinile izolate de la nivelul tractului digestiv au o capacitate mai ridicată de aderență comparativ cu cele izolate din produse fermentate. De asemenea, majoritatea tulpinilor nu au manifestat efect citotoxic și nu au indus modificări morfologice celulelor epiteliale.

Tulpinile de bacterii lactice trebuie, în plus să reziste condițiilor mediului gastrointestinal. Din această cauză pe lângă analiza rezistenței la diferite valori de pH, săruri biliare și enzime digestive, tulpinile selectate au fost testate într-un sistem unicameral de simulare gastrointestinală (GIS1). Rezultatele au dovedit că rezistența la condițiile tractului digestiv este dependentă de tulpină, dar și de condițiile existente la nivelul fiecărui segment al tractului digestiv. Trebuie menționat că sistemul utilizat pentru testarea rezistenței tulpinilor de bacterii lactice la condițiile tractului gastrointestinal, realizat de partenerul P3 –USAMVB prin Prof. Dr. Emanuel Vamanu, a primit recunoașterea internațională prin câștigarea medaliei de aur la Salonul internațional de invenții 2013 de la Geneva.

Pentru utilizarea optimă a microorganismelor probiotice este necesară înțelegerea mecanismelor prin care acestea acționează în vederea potențării efectelor benefice exercitate asupra organismului gazdă. Tulpinile de microorganisme din produsele probiotice trebuie să îmbunătățească starea de sănătate a organismului gazdă, fără a modifica însă homeostazia intestinală, ceea ce impune testarea riguroasă a tulpinilor înainte de includerea lor într-un produs probiotic.

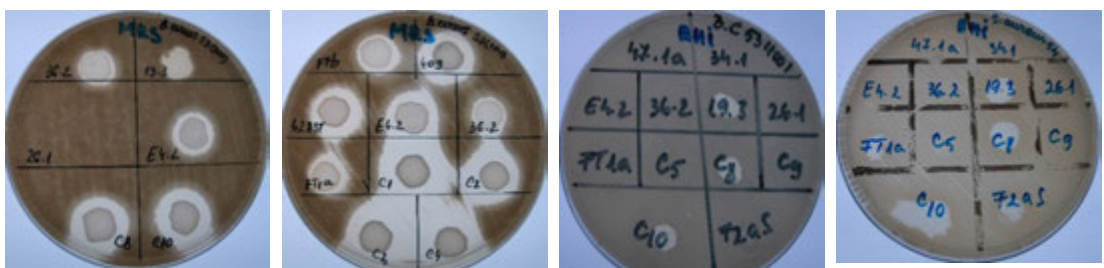
În acest sens, folosind tulpinile de bacterii lactice selectate în primele etape ale proiectului, s-au derulat următoarele activități: analiza interacțiunii bacteriilor lactice cu microorganismele patogene și anumite linii celulare, efectul imunomodulator al tulpinilor de bacterii lactice/fracțiilor microbiene, analiza compușilor biologic activi și determinarea rezistenței tulpinilor la tranzitul prin tractul gastrointestinal uman,

influența condițiilor de creștere asupra biosintezei compușilor cu acțiune antimicrobiană, evaluarea inhibiției de creștere între microorganismele din consorții, evaluarea unui potențial sinergism în ceea ce privește efectele benefice ale tulpinilor de bacterii lactice de la nivelul consorțiilor, influența tulpinilor microbiene care vor intra în consorțiu asupra microbiotei umane simulate în sistemele GIS1 și analiza din punct de vedere chimic a probelor prelevate din sistemele GIS1.



Imagini microscopice privind colocalizarea celulelor de bacterii lactice (albastre) cu celulele patogene (roz)

Rezultatele obținute au condus la realizarea unor consorții constituite din tulpinile de bacterii lactice selectate, care au fost apoi supuse unor analize, în vederea stabilirii consorțiului optim din punct de vedere al efectului probiotic. Aceste analize au urmărit: caracterizarea compușilor cu acțiune antimicrobiană produși de bacterii lactice și influența condițiilor de creștere asupra producerii acestor compuși; influența consorțiilor asupra microbiotei umane simulate în sistemul GIS2 (sistem *in vitro* de simulare a colonului uman în trei segmente); analiza din punct de vedere chimic a probelor prelevate din sistemele GIS2; analiza cantitativă a influenței consorțiilor de bacterii lactice asupra profilului compușilor secretați de celulele epiteliale și evaluarea citotoxicității tulpinilor de bacterii lactice.



Activitatea antimicrobiană a tulpinilor și consorțiilor de bacterii lactice (cultură integrală sau supernatant) față de tulpini de *B. cereus* și *S. aureus*

Din cele 10 consorții realizate, în final a fost selectat un consorțiu alcătuit din trei tulpini de bacterii lactice aparținând speciilor: *Lactobacillus casei*; *Lactobacillus fermentum* și *Lactobacillus plantarum*. Acestea au prezentat activitate antimicrobiană și/sau activitate imunomodulatorie potențată, atât în consorțiu, cât și ca tulpini individuale.

În cadrul acestui proiect au fost publicate 12 articole în reviste cotate ISI și 5 articole în reviste indexate în baze de date internaționale. Rezultatele au fost prezentate la 10 conferințe naționale/internaționale.

TIPUL PROIECTULUI: PROIECT DE CERCETARE PENTRU
STIMULAREA CONSTITUIRII DE TINERE ECHIPE DE CERCETARE
INDEPENDENTE (PN-RU-TE-2014)

TITLUL PROIECTULUI: RĂSPUNSUL LA DIFERITE CONDIȚII
DE STRES AL UNOR BACTERII LACTICE CU APLICAȚII
BIOTEHNOLOGICE

DIRECTOR DE PROIECT: Grosu-Tudor Silvia

DURATA: 2 ani (octombrie 2015 - septembrie 2017)

VALOAREA TOTALA A PROIECTULUI: 550.000 lei

ECHIPA DE CERCETARE:

Dr. Silvia Grosu-Tudor

Dr. Medana Zamfir

Drd. Roxana Ștefan

Drd. Simona Neagu

Dicul Paula

Pagina web: <http://www.ibiol.ro/proiecte/PNII/STRLAB/index.htm>

RĂSPUNSUL LA DIFERITE CONDIȚII DE STRES AL UNOR BACTERII LACTICE CU APLICAȚII BIONANOTEHNOLOGICE

Bacteriile lactice (BL) reprezintă un grup heterogen de microorganisme cu importanță industrială (în special în industria alimentară), care se regăsesc în diferite alimente fermentate (produse lactate, anumite tipuri de mezeluri, cereale fermentate, murături etc.), dar și în părțile verzi ale plantelor, în sol, apă și în tractul gastrointestinal al animalelor și omului. De asemenea, BL sunt cunoscute pentru efectele benefice, motiv pentru care au atras atenția cercetătorilor. În ultimele decenii, BL au fost intens studiate din punct de vedere genetic, fiziologic și al metabolismului acestora.

În prezent există o tendință evidentă de creștere a prezenței pe piață a “alimentelor funcționale”, care asigură consumatorilor o dietă mai sănătoasă, fără a le modifica radical stilul de viață și de nutriție. În acest sens, au fost recent descrise și așa numitele „culturi starter funcționale”, care sunt folosite în industria alimentară pentru obținerea alimentelor funcționale. Aceste culturi starter trebuie să posede cel puțin o proprietate funcțională, cum ar fi conservarea și siguranța alimentară (efect antibacterian, antifungic etc.), efect benefic asupra sănătății (de exemplu producerea de nutraceutice), avantaje tehnologice (de exemplu rezistența la fagi, accelerarea maturării brânzeturilor etc.) sau efecte pozitive asupra proprietăților organoleptice (producerea de compuși aromatici, îmbunătățirea texturii alimentelor fermentate, reducerea sinerezei etc.). În ultimii ani, interesul pentru alimentele funcționale a crescut mult la nivel mondial. Acestea permit consumatorilor se mănânce sănătos, fără o modificare radicală a dietei.

Tulpinile de BL folosite ca starter sunt expuse unor condiții de stres de tipul: pH scăzut, temperaturi prea ridicate sau prea scăzute, stres oxidativ și osmotice

etc. Mai mult, metodele de conservare a culturilor starter pot impune și ele un anumit stres de tipul: pH scăzut, uscare, îngheț/dezgeț, stres care afectează viabilitatea și capacitatea fermentativă a microorganismelor respective, afectându-le performanțele.

În acest context, informațiile privind mecanismele implicate în adaptarea BL la stres, supraviețuirea și stimularea în condiții de stres a biosintezei de metaboliți cu aplicații industriale sunt deosebit de importante din punct de vedere științific și tehnologic.

Evaluarea creșterii/supraviețuirii bacteriilor lactice selectate în diferite condiții de stres (temperatură, salinitate, pH, săruri biliare)

Din colecția de culturi a Departamentului de Microbiologie au fost selectate un număr de 19 tulpini de bacterii lactice cu potențiale aplicații bionanotehnologice (5 tulpini bacteriene sunt producătoare de bacteriocine, 9 tulpini au capacitatea de a produce exopolizaharide, iar ultimele 5 tulpini selectate produc strat S).



Evidențierea producerii de bacteriocine, exopolizaharide și strat S de către bacteriile lactice

Tulpinile selectate au fost supuse unor factori de stres: incubarea la diferite temperaturi (15°C, 20°C, 28°C, 37°C, 42°C, 47°C, respectiv 50°C), la diferite valori de pH ale mediului (3,5; 4,5 respectiv 5,5), în prezența sărurilor biliare (0,05%, 0,1% și 0,2%) și în prezența NaCl (1%, 3%, 5%, respectiv 7%). După 24 h de incubare în aceste condiții, au fost măsurate parametrii de creștere: D.O. 600nm, pH și numărul de celule viabile exprimate în unități formatoare de colonii (UFC)/ml.

Rezultatele experimentale obținute în etapa din 2015 a acestui proiect ne-au condus la următoarele concluzii:

Bacteriile lactice studiate prezintă o rezistență crescută la valori scăzute de pH, acestea putând supraviețui condițiilor acide din stomac timp de cel puțin 2 ore.

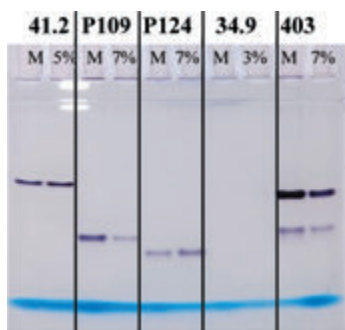
Două tulpini de bacterii lactice, respectiv *Lactobacillus brevis* FV403 și *Lactobacillus brevis* FV530 sunt rezistente în prezența sărurilor biliare în concentrație de cel puțin 0,5%.

Șase dintre tulpinile de bacterii lactice selectate au avut o rezistență crescută la concentrații de NaCl de până la 7%. Adaptarea tulpinilor testate la concentrații mari de NaCl, poate constitui un avantaj în folosirea acestora în industria alimentară, în

vederea obținerii de preparate cu proprietăți îmbunătățite, deoarece procesul tehnologic implică, de cele mai multe ori, un adaos de NaCl.

Studiul modificărilor metabolice și structurale induse de condiții de stres ce pot apărea în timpul proceselor biotehnologice (temperatură scăută sau ridicată și prezența sării)

În acest scop, au fost selectate 6 tulpini de bacterii lactice și anume: *Lactococcus lactis* 19.3 și *Enterococcus durans* 41.2 (tulpini producătoare de bacteriocine), *Leuconostoc mesenteroides* P109 și *Leuconostoc mesenteroides* P124 (tulpini producătoare de exopolizaharide) și *Lactobacillus helveticus* RFF 34.9 și *Lactobacillus brevis* FV 403 (tulpini care produc proteine de strat S).



Profilul izoenzimatic al lactat dehidrogenazelor

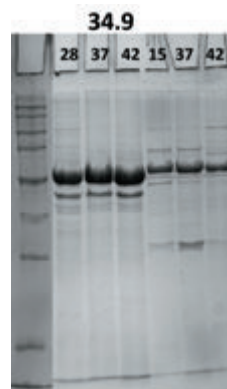
Modificările metabolice și structurale apărute în condițiile de stres studiate au fost evaluate prin metode biochimice și microscopice. Pentru determinările biochimice, proteinele totale au fost extrase din culturi prin sonicare și apoi au fost analizate prin electroforeză în gel de poliacrilamidă. Concentrația

proteică a fost determinată spectrofotometric, folosind metoda Bradford (1976).

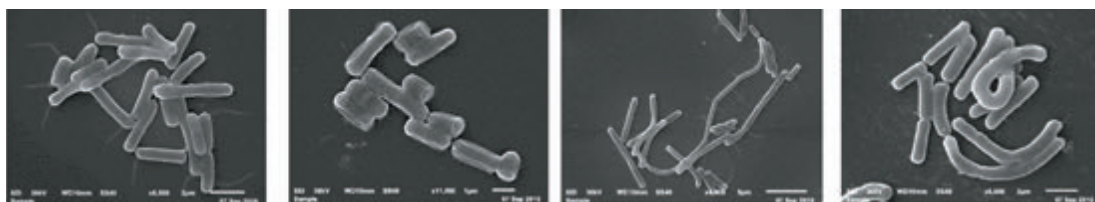
Activitatea unor enzime intracelulare implicate în diferite căi metabolice (lactat dehidrogenază, alcool dehidrogenază, malat dehidrogenază și superoxid dismutază) a fost determinată folosind metode spectrofotometrice specifice. De asemenea, modificările spectrului izoenzimatic al enzimelor respective au fost studiate prin electroforeza în gel de poliacrilamidă.

În continuare, a fost studiată biosinteza unor compuși cu importanță bionanotehnologică (bacteriocine, exopolizaharide, strat S) în condiții de stres, din punctul de vedere al cantității și proprietăților acestora. Bacteriocinele au fost cuantificate prin metoda difuziei în agar, folosind diluții seriale. Exopolizaharidele au fost izolate prin precipitare cu acetonă, uscate și cântărite. Proteinele stratului S au fost evidențiate prin electroforeză în gel de poliacrilamidă (SDS-PAGE).

Modificările la nivel celular induse în condițiile de stres studiate au fost determinate cu ajutorul microscopiei electronice cu baleiaj (Scanning Electron Microscopy).



Evidențierea proteinelor stratului S



Aspectul unor celule bacteriene cultivate la 37°C, 28°C, 42°C și în prezența NaCl

Prin această metodă au fost evidențiate modificări morfologice evidente induse de temperaturile scăzute (celule mai scurte și contractate), temperaturi ridicate (celule foarte lungi și subțiri), stres osmotic (celule curbate).

Rezultatele experimentale obținute în etapa din 2016 a acestui proiect ne-au condus la următoarele concluzii:

Studiile noastre aduc informații noi cu privire la răspunsul la anumiți factori de stres a unor bacterii lactice cu proprietăți funcționale.

Tulpinile testate sunt tolerante la stresul termic și salin, acestea putând fi folosite cu succes în preparate probiotice.

Rezultatele noastre confirmă implicarea anumitor proteine și enzime în răspunsul la factorii de stres testați.

S-a putut face o corelație între activitatea metabolică a tulpinilor în condiții optime de creștere și sub influența unor factor de stres cu funcționalitatea acestora (producerea de exopolizaharide, bacteriocine și strat S).

În ultima etapă a proiectului (2017) ne propunem următoarele obiective:

Studiul modificărilor morfologice, metabolice și structurale induse la variații de pH și în prezența sărurilor biliare.

Evaluarea producerii de compuși cu aplicații bionanotehnologice (exopolizaharide, bacteriocine, proteinele stratului S) la variații de pH și în prezența sărurilor biliare.

Îmbunătățirea performanțelor și funcționalității bacteriilor lactice cu aplicații bionanotehnologice prin diferite strategii cum ar fi pre-adaptarea la condițiile de stres sau așa numita „protecție încrucișată” (cross-protection).

Rezultatele obținute în cadrul acestui proiect au fost valorificate prin publicarea unui articol în reviste cotate ISI, 2 articole în reviste indexate în baze de date internaționale și 4 prezentări la minifestări științifice internaționale.

PROIECT: BIOCATALIZATOR COOPERATIV-DUAL PENTRU BIORAFINĂRIE – OPORTUNITĂȚI ȘI PROVOCĂRI PENTRU CONVERTIREA GLICEROLULUI REZIDUAL LA PRODUȘI VALOROȘI ÎN INDUSTRIA POLIMERILOR (BIOGLYCAT) – CONTRACT NR. 273/2014

COORDONATOR: Institutul de Biologie București

PARTENERI: (1) Universitatea din București, Facultatea de Chimie

(2) S.C. Institutul de Cercetări Produse Auxiliare Organice – Mediaș

DIRECTOR PROIECT: Dr. Mădălin Enache

RESPONSABIL PROIECT P1: Conf. dr. Mădălina Săndulescu

RESPONSABIL PROIECT P2: Ing. Olimpiu Blăjan

Valoarea totală buget: 1.250.000 lei

Valoarea aferenta IBB: 450.000 lei

Perioada de derulare: 2014 – 2017

Pagina web: <http://www.ibiol.ro/proiecte/PNII/BioGlyCat/index.htm>

BIOCATALIZATOR COOPERATIV-DUAL PENTRU BIORAFINĂRIE – OPORTUNITĂȚI ȘI PROVOCĂRI PENTRU CONVERTIREA GLICEROLULUI REZIDUAL LA PRODUȘI VALOROȘI ÎN INDUSTRIA POLIMERILOR (BIOGLYCAT)

BioGlyCat propune dezvoltarea unui nou model pentru catalizatori sub numele de biocatalizator cooperativ-dual, model care se bazează pe sinergismul cuplării a două tipuri de enzime (lipaza și decarboxilaza) în cadrul aceleiași structuri catalitice heterogene. BioGlyCat modelează catalizatorul propus pentru procese de biorafinărie care constau în conversia glicerolului rezidual în derivați ai săi cu valoare industrială (ex. carbonat de glicerol-GlyC, glicidolGlyD și poliglicerol). Glicerolul rezidual este produsul secundar obținut în cantități mari în procesul de fabricare a biodieselului. Acest produs începe să constituie o problemă pentru raportul eficiență/cost al procesului biodiesel. În ciuda faptului că molecula de glicerol prin structura ei are o multitudine de aplicații, glicerolul rezidual nu are valoare pentru industria de sinteză datorită impurităților conținute (metanol, apă, săpun, săruri). De asemenea, purificarea glicerolului rezidual nu este o alternativă fezabilă. Lipsa unui management adecvat pentru glicerolul rezidual atrage după sine scăderea interesului industriei în biodiesel datorită costurilor ridicate de producție și creșterii riscului de poluare a mediului prin stocurile mari de glicerol.

În acest context, BioGlyCat propune conversia biocatalitică a glicerolului asistată de un biocatalizator cooperativ-dual (amestec de enzime - lipaza și decarboxilaza) în format heterogen (enzime imobilizate pe suport solid). Procesul biocatalitic corespunzător se desfășoară în două etape succesive: 1) carbonilarea glicerolului cu dimetil carbonat și obținerea GlyC în prezență de lipază și 2) transformarea GlyC în GlyD și apoi în poliglicerol, proces catalizat de decarboxilază. BioGlyCat propune realizarea unui sistem biocatalitic de sinteză a poliglicerolului care va funcționa în regim de flux

continuu. Acesta va juca rol de prototip pentru realizarea unei instalații pilot. Dezvoltarea sintezei poliglicerolului la scară industrială va constitui un punct de atracție al proiectului BioGlyCat pentru companiile industriale. Atât prototipul cât și unitatea pilot vor fi testate în condiții reale utilizând ca materie primă glicerol separat direct din procesul biodiesel (glicerol rezidual). Se va realiza un studiu amănunțit al efectelor matricei glicerolului rezidual (impurități) asupra eficienței procesului biocatalitic. BioGlyCat lansează ideea unei noi tehnologii sustenabile, competitive, ecologice și eficiente pentru producerea derivaților glicerolului (ex. GlyC, GlyD, poliglicerol) cu aplicabilitate în industria polimerică. În plus, BioGlyCat este o alternativă promițătoare pentru piața biodiesel prin faptul că propune utilizarea glicerolului rezidual, rezultat în urma procesului biodiesel, în sinteza de substanțe chimice importante pentru industria polimerilor.

BioGlyCat propune dezvoltarea unei activități de cercetare sub forma colaborării între mediul public reprezentat de Institutul de Biologie (CO) și Universitatea din București (P1), și mediul privat reprezentat de ICPAO (P2). Astfel, cunoștințele și experiența de laborator ale unităților academice se vor completa cu experiența la scară industrială a IMM-ului. Structura consorțiului este menită să asigure o calitate superioară cercetării și dezvoltării propuse pe baza recunoașterii internaționale a partenerilor CO și P1, cât și o valorificare eficientă a produselor finite generate în cadrul proiectului, pe baza interesului exprimat de partenerul din industrie (P2). Colaborarea propusă în cadrul BioGlyCat va permite realizarea unei noi punți de legătură între mediul public și privat, implicând interes economic de ambele părți și un impact substanțial asupra agenților economici implicați în industria polimerilor. Totodată, BioGlyCat propune o alternativă de sinteză „verde”, cu toxicitate scăzută care să susțină protejarea mediului înconjurător.

GlyC, GlyD și poliglicerolul sunt produși de interes pentru industria chimică fină. Astfel, GlyC este utilizat ca solvent pentru produsele cosmetice și în medicină [1], în timp ce GlyD și poliglicerolii apar ca intermediari în sinteza rășinilor și a materialelor plastice din industria polimerică, dar și în industria farmaceutică și cosmetică [2]. În prezent, sinteza industrială a acestor compuși implică numeroase dezavantaje la nivel economic și constituie un serios pericol pentru mediul înconjurător prin caracterul toxic al proceselor de sinteză, condițiile de reacție care implică un consum energetic excesiv etc. Un exemplu concret este producerea industrială a GlyC care se realizează pe baza unui proces chimic în două etape implicând sinteza inițială a etilen carbonatului ciclic, urmată de reacția acestuia cu glicerol la temperaturi de peste 200°C și presiuni ridicate [3]. GlyD este produs comercial fie prin epoxidarea cu apă oxigenată a alcoolului alilic în prezența de tungsten sau vanadiu, fie prin conversia epichlorohidrinei în mediu puternic bazic (ex. NaOH). Ambele metode implică un randament scăzut în GlyD cât și condiții de reacție drastice (mediu coroziv, catalizatori scumpi, temperaturi de peste 150°C și prezența unui mediu gazos controlabil). Ca o consecință directă, există un număr redus de companii în lume care produc și vând GlyD, producerea sa fiind extrem de costisitoare [4].

Carbonatul de glicerol, GlyC (4-hidroxi-metil-1,3-dioxalan-2-onă) este unul dintre derivații glicerolului, cunoscut ca un material relativ nou introdus în industria chimică, dar cu un potențial larg de utilizare: componentă a membranelor de separare în fază gazoasă, solvent nevolatil sau surfactant pentru mai multe tipuri de materiale (ex. coloranți, lacuri, medicamente, detergenți, adezivi și produse cosmetice), precursor în aplicații biomedicale etc. De asemenea, este considerat un bun biolubrifiant datorită faptului că aderă ușor la suprafețe metalice și rezistă la presiuni ridicate cât și la acțiunea unor agenți de oxidare sau hidroliză [1]. Mai mult, GlyC este folosit ca precursor important al industriei polimerice [5]. În prezent, sinteza la scară industrială a GlyC implică 2 etape. În prima etapă oxidul de etilenă reacționează cu dioxidul de carbon cu formarea carbonatului ciclic de etilenă. În a doua etapă, carbonatul de glicerol și etilenglicerolul sunt generate în urma reacției glicerolului cu carbonatul de etilenă [3].

Glicidolul, GlyD (2,3-epoxi-1-propanol) este un derivat epoxidic al glicerolului care prezintă aplicații în prepararea adezivilor și a poliuretanilor, stabilizator pentru uleiurile naturale și polimeri vinilici, intermediar în sinteza glicerolului, glicidil esterilor și aminelor și precursor în industria de sinteză fină, industria farmaceutică, industria detergenților, industria cosmetică etc. [6-8]. GlyD se produce industrial prin oxidarea alcoolului alilic cu apă oxigenată (H_2O_2) în prezența unui catalizator de oxid de tungsten sau vanadiu [9-10]. Cel mai mare defect al acestei metode este numărul mare de etape în procesul de obținere a GlyD și dificultatea realizării lor (ex. extragerea GlyD dintr-un mediu bogat în produși secundari rezultați în urma unui proces catalitic omogen, purificarea GlyD din mediu apos etc.). Mai mult, catalizatorul folosit se dezactivează în timpul reacției ceea ce implică unele costuri crescute pentru procesul tehnologic [9].

Biocatalizatorul cooperativ-dual este un concept uzual în biocataliză propus în sinteza derivaților glicerolului prin proiectul BioGlyCat. Modelul de biocatalizator propus implică o structură heterogenă cu două tipuri diferite de enzime (lipaza și decarboxilaza). Activitatea cooperativ-duală a biocatalizatorului se concretizează în asistarea catalitică a două procese chimice diferite care pot fi dezvoltate simultan (transesterificarea DMC cu glicerol asistată de lipază și decarboxilarea GlyC în prezența decarboxilazei care conduce la GlyD și mai apoi la poliglicerol). Lipaza și decarboxilaza sunt părțile biocatalitice active din structura biocatalizatorului cooperativ-dual. Lipazele (E.C. 3.1.1.3) sunt enzime ce pot cataliza cu aceeași eficiență atât hidroliza cât și sinteza de acilgliceroli cu lanțuri lungi, aceste procese desfășurându-se cu un grad înalt de regioselectivitate și enantioselectivitate, fapt ce le recomandă ca excelenți biocatalizatori stereoselectivi [11]. Această grupă de enzime prezintă totodată și o largă specificitate de substrat, putând hidroliza un număr mare de esteri cu greutate moleculară mare și mică, tioesteri, amide, esteri poliacizi și poliolici etc. Prin utilizarea acestor enzime în industria alimentară și a pielăriei, bioremediere, în producerea de medicamente, cosmetice, detergenți, pesticide, parfumuri, dar și a altor materiale organice sintetice [12] se eficientizează costurile proceselor de cataliză

și sunt reduse problemele de separare în urma reacției [13]. Deși răspândite în toate domeniile de viață, lipazele pot fi izolate mai frecvent din bacterii, fungi și levuri (*Candida* sp., *Pseudomonas* sp. și *Rhizopus* sp.), microorganisme extremofile (*Halobacterium* sp., *Chromohalobacter* sp., *Natronococcus* sp.), constituind o excelentă alternativă pentru procesele industriale [14]. Decarboxilazele catalizează reacția de decarboxilare a alfa-cetoacizilor și a aminoacizilor, având ca și coenzime tiaminpirofosfatul (pentru alfa-cetoacizi), biotina (pentru beta-cetoacizi) și piridoxalfosfatul (pentru alfa-aminoacizi).

Modelul de biocatalizator cooperativ-dual implică imobilizarea pe suport (imobilizare covalenta) sau în prezența unui suport (cross-linking) a amestecului enzimatic (lipaza și decarboxilaza). Imobilizarea enzimei pe suport solid oferă o serie de avantaje experimentale cât și de eco-eficiență. Astfel, în urma imobilizării pe suport, enzimele (mai ales lipazele) își sporesc rezistența la solvenți organici, uneori chiar implicând o creștere aparentă a activității biocatalitice [15].

Valorificare rezultate (2014 – 2016):

Lucrări științifice: 7

Prezentări orale conferințe naționale și internaționale: 8

Postere conferințe naționale și internaționale: 7

Bibliografie

- [1] D. Herault, A. Eggers, A. Strube, J. Reinhard, DE101108855A1 (2002).
- [2] J. Rousseau, C. Rousseau, B. Lynikaite, A. Sakcus, C. de Leon, P. Rollin, A. Tatibouet, *Tetrahedron*. 65 (2009) 8571-8581.
- [3] A. Behr, J. Eilting, K. Irawadi, J. Leschinski, F. Lindner, *Green Chemistry*. 10 (2008) 13-30.
- [4] IARC MONOGRAPHS. 77 (1999) 469-486.
- [5] G. Rokicki, P. Rakoczy, P. Parzuchowski, M. Sobiecki, *Green Chemistry*. 7 (2005) 529.
- [6] A. Dworak, W. Walach, *Polymer*. 50 (2009) 3440-3447.
- [7] J.-W. Yoo, Z. Mouloungui, A. Gaset, USP 6316641. 6316641 (2001).
- [8] M. Pagliaro, R. Ciriminna, H. Kimura, M. Rossi, C. Della Pina, *Angewandte Chemie International Edition*. 46 (2007) 4434-4440.
- [9] D.-O. 703, U.S.
- [10] C. Hammond, J.A. Lopez-Sanchez, M.H. Rahim, N. Dimitratos, A.F. Jenkins, Q. Carley, C.J. He, D.W. Kiely, G.J.H. Knoght, *Danton Transactions*. 40 (2011) 3927.
- [11] K-E Jaeger, BW Dijkstra, MT Reetz, *Annu Rev Microbiol*. 53 (1999) 315-351.
- [12] NN Gandhi, *Applications of lipase. Journal of American Oil Chemists' Society* 74 (1997) 621-634.
- [13] A Pandey, S Benjamin, CR Soccol, P Nigam, N Krieger, *UT Soccol, Biotechnol Appl Biochem* 29 (1999)119-131
- [14] M Enache, M Kamekura, *Rom. J. Biochem.*, 47. (2010) 1, 47-59.
- [15] J.M. Palomo, C. Ortiz, G. Fernández-Lorente, M. Fuentes, J.M. Guisán, R. Fernández-Lafuente, *Enzyme and Microbial Technology*. 36 (2005) 447-454.

PROIECT: ELABORAREA MODELELOR EXPERIMENTALE PENTRU STUDIUL BIOPIGMENTARII PICTURII MURALE: DIAGNOSTIC, TRATAMENT, RESTAURARE (EXMODBP) – CONTRACT NR. 323/2014

COORDONATOR: Universitatea Națională de Arte București

PARTENERI: (1) Institutul de Biologie București

(2) S.C. Ceprochim S.A. - București

DIRECTOR PROIECT: Prof. univ. dr. Ioana Gomoiu

RESPONSABIL PROIECT P1: Dr. Mădălin Enache

RESPONSABIL PROIECT P2: Dr. Ing. Ileana Mohanu

Valoarea totală buget: 1.250.000 lei

Valoarea aferenta IBB: 325.000 lei

Perioada de derulare: 2014 – 2017

Pagina web: <http://www.biopigmentare.ro/>

ELABORAREA MODELELOR EXPERIMENTALE PENTRU STUDIUL BIOPIGMENTARII PICTURII MURALE: DIAGNOSTIC, TRATAMENT, RESTAURARE (EXMODBP)

ExModBP are ca scop elucidarea originii pigmentației de culoare roz, apărută pe pictura murală cât și pe substraturi minerale, și modul de abordare în activitatea de restaurare a picturii murale. De asemenea, abordează o cercetare interdisciplinară care are ca scop elucidarea originii pigmentației de culoare roz și modul de abordare în activitatea de restaurare a picturii murale. Pigmentația roz a fost pusă în evidență pe monumente istorice din Europa și a fost atribuită în unele cazuri proceselor chimice iar în altele efectelor metabolismului biodeteriogenilor; nu s-au efectuat cercetări aprofundate în laborator sau corelații între biologia speciilor și condițiile de microclimat din monumentele respective.

În cadrul proiectului, în trapeza Mănăstirii Hurezi, se vor efectua observații directe asupra zonelor cu pigmentație roz-roșu și se va elabora documentația fotografică de specialitate. Se propune ipoteza originii biologice a pigmentației roz dar nu se omite originea chimică a acesteia. Originea biologică va fi demonstrată prin studiul morfologiei picturii murale *in situ*, analiza probelor recoltate la microscopul optic și electronic, analiza microbiologică, izolarea și identificarea prin tehnici moleculare a biodeteriogenilor. Aspectul morfologic al picturii murale și a mortarului biopigmentat va fi corelat cu parametrii de microclimat, biologia speciilor producătoare de pigmenți carotenoizi și modificările structurale determinate de acestea.

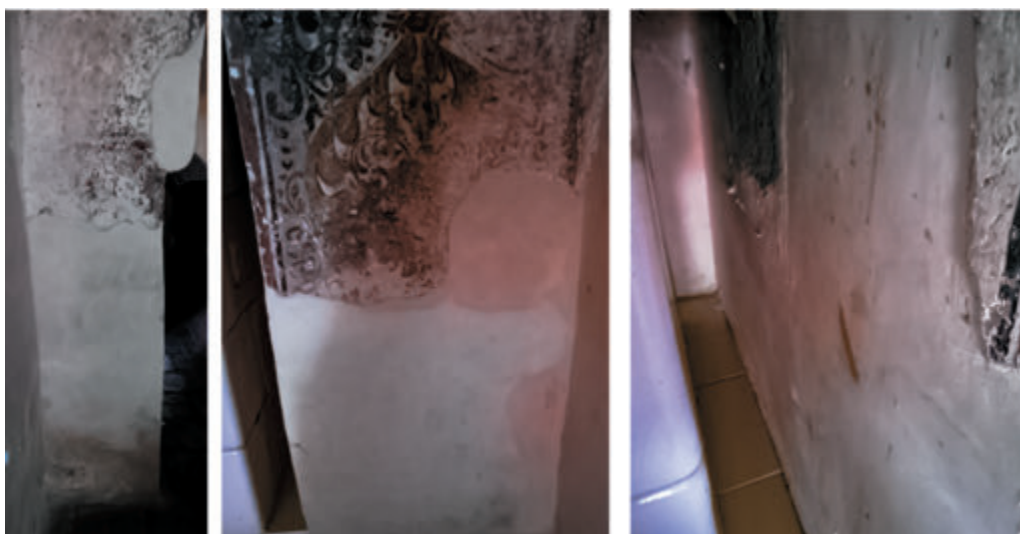
Un aspect de noutate îl constituie studiul procesului de biopigmentare pe modele experimentale reprezentate de pictură murală executată în tehnica originală precum și de mortare cu pori mai mari de 1μm pentru a verifica ipoteza emisă în proiect privind originea sursei de contaminare și colonizarea picturii murale (biopigmentarea se datorează bacteriilor halofile producătoare de pigmenți carotenoizi; acestea se deplasează împreună cu apa, prin structura poroasă; fiind aerobe ajung la suprafața

picturii unde formează un biofilm de culoare roz; în condiții nefavorabile de mediu rămân fixate în structura poroasă și redevin active odată cu modificarea microclimatului). Modificările produse de biodeteriogeni la suprafața și în profunzimea modelelor experimentale vor orienta alegerea celei mai bune variante pentru a fi folosită în executarea modelelor experimentale care se vor plasa *in situ* (trapeza Mănăstirii Hurezi). Astfel se va identifica în timp scurt momentul apariției procesului biologic de pigmentare, ceea ce va determina analiza umidității din pereți, aplicarea metodelor corecte pentru eliminarea acestora și reducerea umidității relative, instituirea tratamentelor locale de decontaminare, îndepărtarea eflorescențelor. Aceleași modificări vor orienta elaborarea strategiei de intervenție de restaurare pe modele de laborator și *in situ* folosind mortare prototip (obținute în proiect) cu pori mai mici de 1μm, rezistente la biodeteriogeni și la condiții extreme de conservare.

În cadrul etapei de **analiza și localizarea suprafețelor biopigmentate din trapeză** a fost examinat peretele cu expunere nordică atât în zonele cu pictură murală cât și în cele unde aceasta s-a pierdut dar în prezent există mortar de reparație. Examinarea vizuală a pus în evidență trei tipuri de biopigmentație: roz-gălbui, roz și neagră.

Pe perețele de est, în partea bazală, pe mortarul aplicat în zonele lacunare, s-au identificat suprafețe de culoare roz nuanța deschisă delimitate de margini a căror nuanță de roz este mai intensă.

În partea inferioară a arcului orientat N-E, a celui orientat N-V ca și în firidă (N-V) s-au identificat suprafețe de culoare galben-roz și roz. Din aceasta zonă s-a recoltat pentru analiza la microscopul optic proba codificată P3. În partea inferioară a peretelui menționat s-a constatat că în unele locuri, mortarul s-a desprins sau este pulverulent. S-au localizat zonele în care procesul de desprindere este în desfășurare; s-a constatat că acest proces antrenează chiar resturile vegetale (ca parte componentă a mortarului).



Pigmentația roz identificată pe peretele cu expunere nordică, la bază, pe mortar și în partea inferioară a picturii murale păstrate

În cadrul experimentelor efectuate, privind caracterizarea prin metode de biochimie și biologie moleculară a unor tulpini bacteriene implicate în procesul de biodegradare a picturii murale de la Mănăstirea Hurezi din județul Vâlcea, au fost luate în studiu șase tulpini izolate din fresca din trapeza mănăstirii menționate. Cele șase tulpini au fost cultivate pe un mediu de cultură care oferă condiții optime de creștere, respectiv mediul MH (Ventosa et al., 1989), din celulele obținute ADN fiind extras urmând procedura descrisă de Tamaoka (1994) sau folosind kituri de extracție urmând protocolul descris de producător. După extracție și purificare probele de ADN obținute au fost analizate din punct de vedere al conținutului și purității prin spectrofotometrie UV-VIS. Ulterior au fost amplificate prin PCR, clonate și secvențiate de către compania comercială BaseClear BV din Olanda prin intermediul S.C. BioZyme S.R.L. pe baza protoalelor proprii folosind următorii primeri:

GM3f (5'AGAGTTTGATCMTGGC) și GM4r (5'TACCTTGTTACGACTT) (Muyzer et al., 1995), pentru bacterii

21f (TTCCGGTTGATCCYGCCGGA) și 958r (YCCGGCGTTGAMTCCAATT) (De-long, 1992), pentru archaea

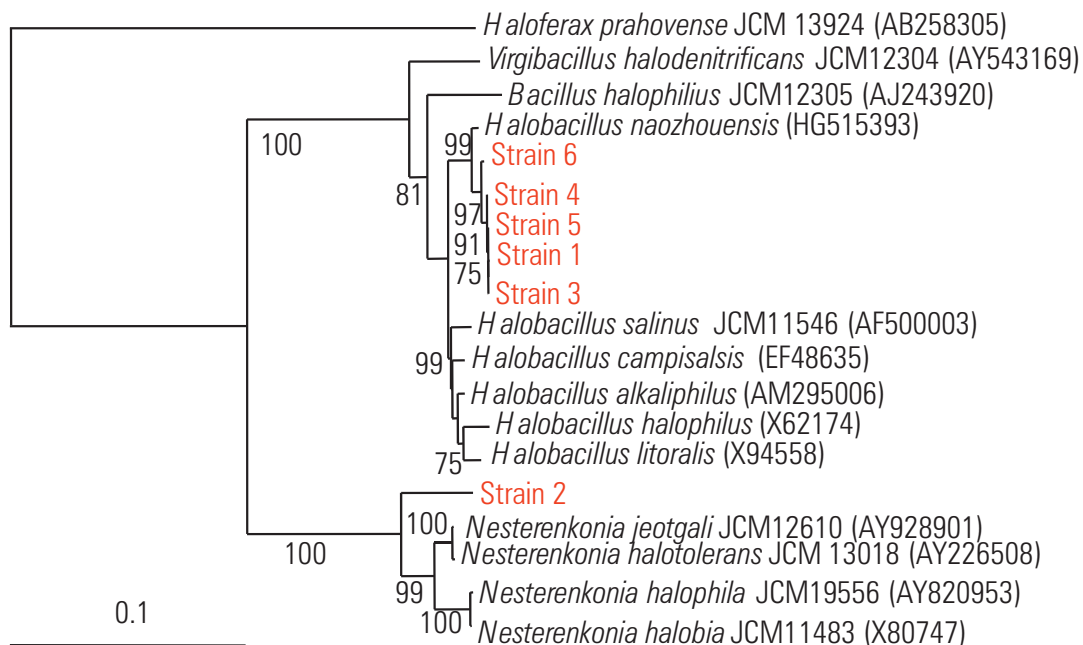
401F(GACTGGTTGTTYACVACGCC) și 795R(AAGCCGAAGCCGAYCTTBGC) (Papke et al.,2007), pentru bacteriorhodospină.

Analiza pe baza secvenței parțiale a SSU rARN arată ca cinci dintre tulpinile investigate grupează din punct de vedere filogenetic cu tulpina *Halobacillus naozhouensis* iar proba 2 grupează în proximitatea clusterului format de speciile genului *Nesterenkonia*. În primul caz, rezultatele susțin prezența unei tulpini noi aparținând genului *Halobacillus*, sau ținând cont de modalitatea în care s-au grupat tulpinile 1, 3, 4 și 5 se poate argumenta și în sensul unei posibile prezențe a unor copii multiple ale genei SSU rRNA cu un grad de divergență mai mare de 5% , respectiv la o heterogenitate intragenomică în cazul genului *Halobacillus*.

Caracteristici biochimice care diferențiază tulpina 2 de celelalte tulpini investigate.

M = concentrația molară; „-„ = absentă; „+” = prezentă

Caracteristici investigate	Proba 2	Proba 1	Proba 6
Culoare	Bej	Roz - rosu	Rosu
Colorație Gram	+	-	-
Morfologie	Cocobacil	Bacil	Bacil
Creștere pe mediu cu saruri biliare 0,004%	+	+	+
Creștere pe mediu cu chloramfenicol 0,002%	-	-	-
Oxidază	-	+	+
Catalază	+	+	+
Intervalul de NaCl pentru creștere	1 – 4 M	0 – 3 M	0 – 3M
Concentrația optimă de NaCl	2M	1 – 2 M	0 – 1M
Hidroliza gelatinei	-	-	-
Hidroliza Tween80	-	+/-	-
Hidroliza cazeinei	-	+	+
Hidroliza CMC	-	-	-
Hidroliza amidonului	-	+	+
Producerea de indol din triptofan	-	+	+



Arborele filogenetic reconstruit pe baza secvențelor SSU rRNA aratand prezenta tulpinilor investigate intre membrii genului *Halobacillus* si in proximitatea genului *Nesterenkonia*. Arborele a fost reconstruit prin metoda neighbor – joining fiind prezentata probabilitatea maxima mai mare de 70%. Bara, 0.1 = substitutia per pozitia nucleotidelor.

In cazul tulpinii 2, care se regaseste in structura arborelui filogenetic in proximitatea clusterului membrilor genului *Nesterenkonia*, rezultatele sustin prezenta unei specii noi.

Valorificare rezultate (2014 – 2016):

Lucrări științifice: 7

Prezentări orale conferințe naționale și internaționale: 8

Postere conferințe naționale și internaționale: 7

PROIECT: TEHNICI DE REFACERE A ADERENȚEI SUPORTULUI PICTURILOR MURALE ÎN FRESCĂ DIN BISERICILE DE LEMN. CONTRIBUȚIE LA SALVAREA UNUI PATRIMONIU UNIC (STUDIU DE CAZ ȘI APLICAȚII LA MONUMENTE DIN JUDEȚUL VÂLCEA (REABIL) - CONTRACT NR. 313/2014

COORDONATOR: CEPROCIM S.A.

PARTENERI: Universitatea Națională de Arte, București (UNAB), Institutul de Biologie București (IBB)

DIRECTOR PROIECT: Dr. Ing. Ileana Mohanu

RESPONSABIL IBB: Prof.univ.dr. Ioana Gomoiu

Valoarea totală: 250.000

Valoarea încasată în perioada 2014-2016= 169.268

EXAMINAREA STĂRII DE CONSERVARE DIN PUNCT DE VEDERE AL BIODETERIORĂRII BISERICILOR DE LEMN DIN IONEȘTI, ȘI AMĂRĂȘTI, JUDEȚUL VÂLCEA

Starea de conservare a picturii murale și a suportului lemnos s-au stabilit prin examinarea vizuală *in situ*, analiza probelor la microscopul optic și electronic precum dar și prin prelucrarea microbiologică a acestora pe medii nutritive specifice.

Examinarea directă efectuată cu ochiul liber și cu lupa, în lumină directă și lumină razantă a avut ca scop identificarea morfologiilor caracteristice diferitelor categorii de biodeteriogeni precum și a depunerilor de natură organică (cu rol de substrat nutritiv pentru biodeteriogeni). În cazul ambelor monumente istorice documentația fotografică este relevantă atât pentru pridvor, pronaos, naos și altar.

S-au identificat: lemn colonizat de fungi filamentoși (*Aspergillus niger*; Fig. 1 și Fig.2) și de bazidiominate (Fig.3 – Fig.6), depuneri de ceară în diferite faze de descompunere (produsă de fungi microscopici; Fig.7 - Fig.11), orificii de zbor ale insectelor xilofage (Fig.12 și Fig.13), galerii ale insectelor xilofage dispuse în plan vertical și orizontal (Fig.14 – Fig.16) orificii corespunzătoare cuielor de lemn opturate cu material papetar în fază avansată de descompunere, furnici cu rol în răspândirea fungilor.



Fig.1 și Fig. 2. Lemn colonizat de fungi filamentoși (biserica din Ionești, naos, interior)



Fig. 3 – Fig. 6. Lemn colonizat de bazidiomicete: miceliu, corpuri de fructificație (biserica din Amărăști, pridvor și pronaos)



Fig. 7 - Fig. 11. Depuneri de ceară în diferite stadii de descompunere (biserica din Ionești, naos)



Fig. 12 și Fig. 13. Orificii de zbor ale insectelor xilofage colonizate de fungi microscopici (biserica din Ionești, naos)



Fig. 14 - Fig. 16. Galerii ale insectelor xilofage dispuse în plan orizontal și vertical (biserica din Amărăști, naos)

Recoltarea probelor s-a efectuat prin metode distructive (detașare) în cazul suportului lemnos și metode non distructive în cazul picturii murale (amprentare). În cazul picăturilor de ceară, acestea au fost detașate evitând straparea stratului pictural.

Examinarea probele recoltate la microscopul optic și la microscopul electronic a confirmat atât prezența fungilor microscopici pe pictura murală, picături de ceară, lemn și excremente de insecte (Fig.17 – Fig. 26) cât și a bazidiomicetelor pe lemnul structural din pronaos (Fig.27 – Fig.30).

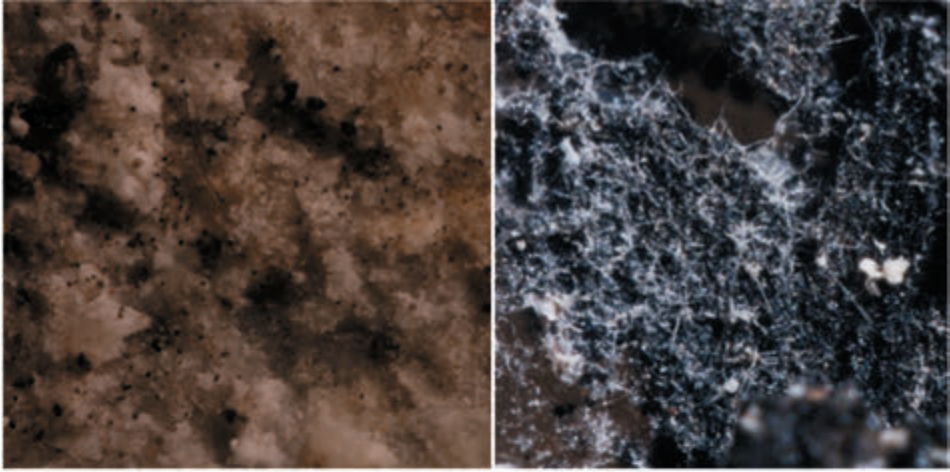


Fig. 17 și Fig.18. Fungi filamentoși identificați pe mortar și picături de ceară (MO - X=50; biserica din Ionești)

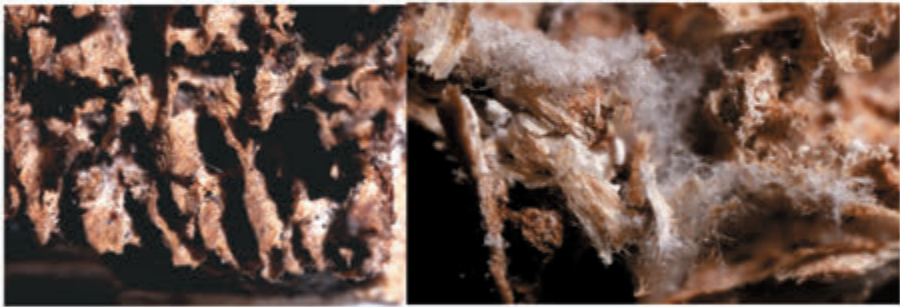


Fig. 19 și Fig. 20. Corp de fructificație și miceliu de *Antrodia sinuosa* (MO - X=50; biserica din Amărăști, pronaos)

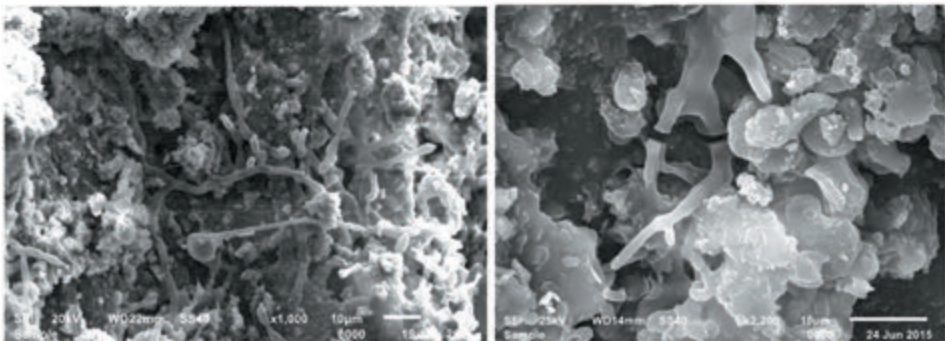


Fig. 21 și Fig. 22. Fungi filamentoși pe probe de mortar (SEM – biserica din Amărăști, pronaos)

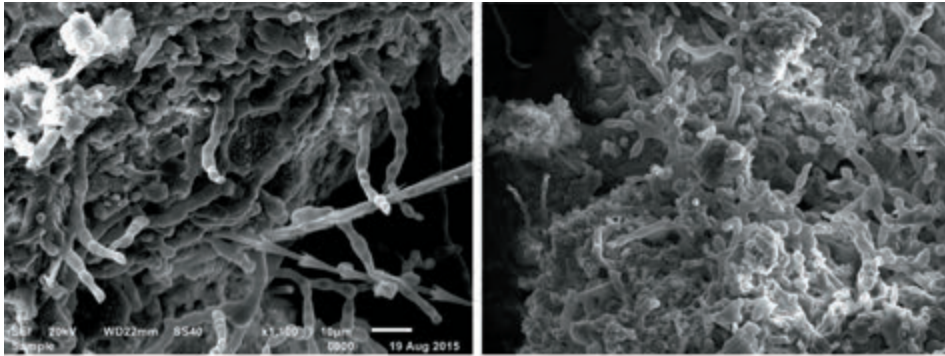


Fig. 23 și Fig. 24. Fungi filamentoși pe probe de lemn (SEM – biserica din Amărăști, pronaos)

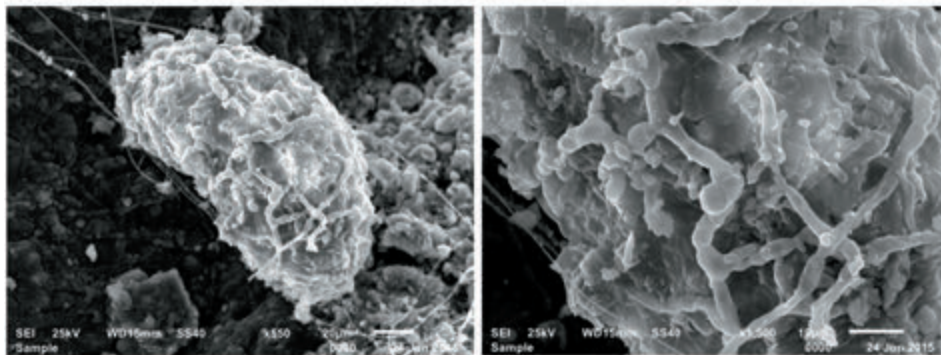


Fig. 25 și Fig. 26. Fungi filamentoși pe excremente de insecte depuse pe lemn (SEM – biserica din Amărăști, pronaos)

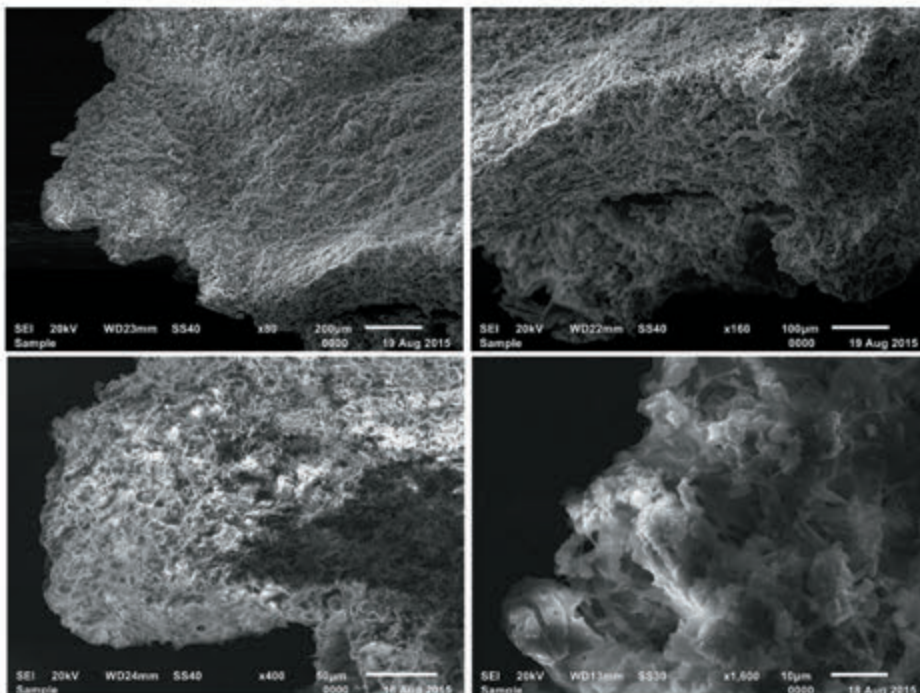


Fig. 27 – Fig. 30. Corp de fructificație de *Antrodia sinuosa* în fază avansată de descompunere (SEM – biserica din Amărăști, pronaos)

Prin analiza microbiologică a probelor, s-a constatat că încărcătura maximă pentru bacterii a fost de $1,0 \times 10^{-2}$ - $1,6 \times 10^{-3}$ iar pentru fungi de $1,6 \times 10^{-4}$ - $1,8 \times 10^{-6}$. A fost testată sensibilitatea la biocizi (folosiți în restaurare) a principalilor microbiodeteriori.

Anterior aplicării mortarelor de intervenție pentru refacerea aderenței stratului pictural la stratul suport atât lemnul cât și marginile picturii murale s-au decontaminat cu BIOTIN R.

CONCLUZII

Starea de conservare a picturii murale în ambele biserici este necorespunzătoare; apreciem că biserica din Amărăști necesită intervenția de urgență cu scopul salvării picturii murale din altar;

Intervenția de urgență biserica din Amărăști este necesară și în cazul structurii lemnoase deoarece aceasta este intens biodeteriorată de *Antrodia sinuosa*, în multe locuri chiar cu pierdere de material lemnos, existând pericolul prăbușirii;

Principalii biodeteriori identificați sunt: fungii, insectele xilofage, insecte în general, insect xilofage în special;

S-au identificat biocizii pentru decontaminarea lemnului și a marginilor picturii murale existente;

S-a elaborat strategia de analiză și tratament a picturii murale detașate de suport; aceasta a fost aplicată numai la biserica din Amărăști.

**TITLUL PROIECTULUI: BIODIVERSITATE ȘI DISTRIBUȚIE CRONOLOGICĂ
A MICROORGANISMELOR ÎN STRATURILE DE GHEAȚĂ PERENĂ DIN
GHEȚARUL SCĂRIȘOARA (ROMÂNIA)**

COD PROIECT: PN-II-ID-PCE-2011-3-074

NR. CONTRACT: 159/2011

DIRECTOR PROIECT: Cristina Purcărea

VALOARE: 1.484.000 lei

PERIOADA DE DERULARE: 2012-2016

**BIODIVERSITATE ȘI DISTRIBUȚIE CRONOLOGICĂ
A MICROORGANISMELOR ÎN STRATURILE DE GHEAȚĂ PERENĂ
DIN GHEȚARUL SCĂRIȘOARA (ROMÂNIA)**

Studiul microorganismelor psihrofile a cunoscut un interes crescut în ultima decada datorită potențialului lor biotehnologic, însă informația privind microbiota din gheața perenă din peșteri este foarte limitată. Concomitent cu interesul aplicativ, identificarea biodiversității microbiene în aceste ecosisteme prezentând o conservare ridicată datorită impactului limitat al factorilor externi, contribuie atât la determinarea conservării și rolului funcțional al speciilor microbiene în peșterile de gheață, cât și la dezvoltarea de modele microbiene în exobiologie. Peștera Ghetarul Scarisoara (România) conține cel mai mare bloc de gheață subterană din lume, reprezentând al doilea depozit de gheață dintr-o peștera ca vechime, cu vârstă de peste 1.200 ani. Studii paleoclimatice au permis corelarea condițiilor specifice formării acestui bloc de gheață cu particularitățile climatice. În acest context, interesul nostru principal este de a identifica biodiversitatea microbială din depozitele de gheață din peștera Scarisoara, și de a determina distribuția cronologică a microorganismelor în acest habitat precum și identificarea unor biomarkeri climatici corespunzători. Studiul cuprinde analiza filogenetică și fiziologică a microorganismelor cultivabile și necultivabile, incluzând bacteriile heterotrofe și fototrofe, archaea și microorganismele eucariote izolate din gheață stratificată de diferite vârste și lacuri supraglaciare ale blocului de gheață din această peștera. Noile tulpini microbiene identificate în acest studiu vor fi izolate și caracterizate în vederea selectării unor noi microorganisme psihrofile cu potențial aplicativ în bionanotehnologie.

TITLUL PROIECTULUI: DIVERSITATEA ȘI ACTIVITATEA METABOLICĂ A MICROBIOMULUI PEȘTERILOR DE GHEAȚĂ CA RĂSPUNS LA SCHIMBĂRILE CLIMATICE ȘI POLUAREA ANTROPICĂ (CAVICE)

COD PROIECT: ELAC2014/DCC-0178/H2020 – Joint Calls

NR. CONTRACT: 24/2016

COORDONATOR CONSORTIU: Cristina Purcărea

VALOARE TOTALĂ: 702.999,00 € (1.007.370 lei IBB)

PERIOADA DE DERULARE: 2016-2018

DIVERSITATEA ȘI ACTIVITATEA METABOLICĂ A MICROBIOMULUI PEȘTERILOR DE GHEAȚĂ CA RĂSPUNS LA SCHIMBĂRILE CLIMATICE ȘI POLUAREA ANTROPICĂ (CAVICE)

Studiul ecosistemelor glaciale care cuprind regiunile polare, lacurile înghețate, ghețarii și straturile atmosferice superioare prezintă un interes particular datorită vulnerabilității acestora la schimbările climatice și a potențialului biotehologic al microorganismelor psihrofile. Până în prezent, datele privind microcosmosul din gheața acumulată în peșteri sunt extrem de limitate, diversitatea funcțională și productivitatea microbială a acestui ecosistem fiind încă neexplorate. Aceste habitate conservate și relativ izolate constituie arhive pentru studierea impactului climei și al poluării antropice asupra diversității și activității metabolice a comunităților microbiene din gheața perenă din peșteri. Proiectul de față reprezintă primul studiu al diversității comunităților microbiene active din gheața de peșteră și a profilului metabolic al acestora, urmărind determinarea structurii și rolului funcțional al actorilor-cheie din acest ecosistem folosind metode metagenomice și metatranscriptomice prin secvențializare Illumina (Next Generation Sequencing). Proiectul vizează un studiu comparativ al comunităților microbiene totale și active din peșteri de gheață caracterizate de diferite condiții climatice și de poluare antropică, în vederea identificării diversității microbiene și a metabolismului acestora în peșterile de gheață și a determinării unui model cronologic al impactului climatic și al poluării mediului asupra microcosmosului acestui tip de habitat. Structura comunităților bacteriene active va fi analizată în corelație cu conținutul de contaminanți de origine antropică, cu variațiile climatice în funcție de originea gheții și de localizarea geografică, în vederea identificării unor potențiali biomarkeri pentru aceste ecosisteme glaciale. Rezultatele acestui studiu vor contribui atât la caracterizarea activității microbiene într-un habitat puțin explorat, cât și la investigarea impactului variațiilor climatice și al poluării mediului asupra acestor monumente naturale, în vederea unei mai bune gestionări ale siturilor și a protecției și conservării lor mai eficiente. De asemenea, proiectul vizează identificarea unor microorganisme psihrofile și/sau psihrotolerante cu potențial biotehologic ridicat capabile de sinteza nanoparticulelor metalice, conducând la lărgirea potențialului aplicativ al microcosmosului depozitelor de gheață perenă. Parteneriatele create între universitățile și instituțiile de cercetare din Europa și America

Latină vor contribui la dezvoltarea cercetării românești și la crearea unei dinamici a cercetărilor în stadii incipiente de formare. Rezultatele studiului vor constitui baza unor proiecte comune internaționale vizând aspecte fundamentale și aplicative ale răspunsului microcosmosului criosferei terestre la schimbările climatice și de mediu și de obținere a unor produși cu utilizare în diverse ramuri nanotehnologice.

TITLUL PROIECTULUI: REZILIENȚA SISTEMELOR HIDROTERMALÉ FAȚĂ DE PERTURBĂRI ANTROPICE ȘI NATURALE. STUDIU DE CAZ: ZĂCĂMÂNTUL TERMOMINERAL SULFUROS DE LA BĂILE HERCULANE (RESILTHERM)

COD PROIECT: PN-II-PT-PCCA-2011-3.1-1619

NR. CONTRACT: 48/2012

DIRECTOR PROIECT: Dr. Constantin Marin, Institutul de Speologie "Emil Racoviță" București; Partener: IBB (Cristina Purcărea)

VALOARE: 2.000.0000 (IBB - 136.900 lei)

PERIOADA DE DERULARE: 2012-2016

REZILIENȚA SISTEMELOR HIDROTERMALÉ FAȚĂ DE PERTURBĂRI ANTROPICE ȘI NATURALE. STUDIU DE CAZ: ZĂCĂMÂNTUL TERMOMINERAL SULFUROS DE LA BĂILE HERCULANE (RESILTHERM)

În cadrul monitorizării regimului hidric, chimic, izotopic și microbiologic al structurilor acvifere din zona Băile Herculane, proiectul urmărește investigarea *structurii comunităților microbiene totale, conținând microorganisme cultivabile și necultivabile*, din izvoarele și forajele hidrotermale în vederea analizei fluctuațiilor acestora ca răspuns la schimbările de mediu sezoniere, hidrologice, chimice și antropice. La nivel molecular, compoziția și diversitatea comunităților bacteriene ale celor 14 surse termale investigate (8 izvoare și 6 foraje) din sistemul hidrografic Băile Herculane au fost analizate prin electroforeză în gel denaturant DGGE și pirosecvențializare-454 a genelor 16S ARNr bacteriene și archeene din aceste habitate. Studiul impactului compoziției hidrochimice asupra structurii comunităților microbiene la nivelul rețelei hidrotermale din zona Băile Herculane a urmărit corelarea diversității taxonomice a microorganismelor procariote (bacterii și archaea) din izvoarele Diana I+II și Forajele Neptun I+IV cu parametrii fizico-chimici ai apelor hidrotermale pentru investigarea rezilienței acestora la impactul perturbărilor antropice și naturale.

TITLUL PROIECTULUI: MICROORGANISMS IN WARMING ARCTIC ENVIRONMENTS (MICROARCTIC)

COD PROIECT: H2020-MSCA-ITN-2014 ETN642614

DIRECTOR PROIECT: Alexandre Anesio, University of Bristol

PARTENER: IBB (Cristina Purcărea)

VALOARE: 215.069 euro IBB

PERIOADA DE DERULARE: 2016-2019

MICROORGANISMS IN WARMING ARCTIC ENVIRONMENTS (MICROARCTIC)

The Arctic plays a key role in the Earth's climate system and is an area of growing strategic importance for European policy. In this ETN, we will train the next generation of Arctic microbiology and biogeochemistry experts who, through their unique understanding of the Arctic environment and the factors that impact ecosystem and organism response to the warming Arctic, will be able to respond to the need for leadership from public, policy and commercial interests. The training and research programme of MicroArctic is made up of seven interlinked Work Packages (WP). WP1 to WP4 are research work packages at the cutting edge of Arctic microbiology and biogeochemistry and these will be supported by three overarching WPs (WP5-7) associated with the management, training and dissemination of results. WP1 will deliver information about the role of external inputs (e.g., atmospheric) of nutrients and microorganism that drive biogeochemical processes in relation to annual variation in Arctic microbial activity and biogeochemical processes. WP2 will explore ecosystem response on time scales of 100s of years to these inputs using a chronosequence approach in the already changing Arctic. The effect of time and season and the warming of the Arctic on ecosystem functioning and natural resources will be quantified through geochemical analyses and next generation multi-omics approaches. Complementing WP1 and WP2, WP3 will focus on organism response and adaptation using a range of biochemical, molecular, experimental and culturing approaches. WP4 will address specific applied issues such as colonisation by pathogenic organisms and biotechnological exploitation of Arctic ecosystems. MicroArctic will bring together interdisciplinary experts from both the academic and non-academic sectors across Europe into a network of 20 Institutions across 13 countries.

BREVETE OBȚINUTE DE CERCETĂTORII DEPARTAMENTULUI ȘI APRECIERI ALE REZULTATELOR, PRIN DIPLOME ȘI MEDALII

Medalie de argint obținută la ediția a 3-a a Salonului de inovație, cercetare și noi tehnologii, Bruxelles, 2004 (Popea Florina, Toniuc Maria, Cismașiu Carmen)



Medalie de argint obținută la Salonul Arca 2007, Zagreb, Croația (Popea Florina, Toniuc Maria, Cismașiu Carmen)



Medalie de argint obținută la Salonul Inventica, București, 2008 (Popea Florina, Toniuc Maria, Cismașiu Carmen)



Diplomă și medalie de argint și de aur, obținute la Salonul internațional de invenții de la Geneva, 2005 (Popea Florina, Toniuc Maria, Cismașiu Carmen, Voicu Anca, Dobrotă Smaranda, Ștefănescu Mugur Cristian, Lăzăroaie Mihaela Marilena)



Diplomă și medalie de argint și de aur, obținute la Salonul internațional de invenții de la Geneva, 2005 (Popea Florina, Toniuc Maria, Cismașiu Carmen)



Medalie de aur, obținută la Salonul Inventika, București, 2010 (Voicu Anca, Dobrotă Smaranda, Ștefănescu Mugur Cristian, Lăzăroaie Mihaela Marilena)



Brevet și medalie obținute la Salonul național de invenții (Popea Florina, Toniuc Maria, Cismașiu Carmen)



MINISTERE DE L'ÉDUCATION ET DE LA RECHERCHE ROUMANIE

INSTITUT DE RECHERCHE ET CONCEPTION TECHNOLOGIQUE POUR LES CONSTRUCTIONS MECANQUES
 Sos. Otteni 193, 71691 Bucarest, sector 4,
 Tel.: +40 21 332.37.70; Fax: +40 21 332.67.75
 e-mail: icctcm@icctcm.ro

ICTCM

Méthode microbiologique pour l'enlèvement des métaux lourds des eaux résiduaires galvaniques

Auteurs
 BORDEIANU MARIA
 STANCU RODICA
 SANDU IULIANA
 POPEA FLORINA
 TONIUC MARIA
 CISMASU CARMEN

Brevet RO
 AUBREVILLE DU 03/03/2004

Description
 On réduit la concentration de cuivre, nickel et zinc comme suite de la bioabsorption des ions par les bactéries hétérotrophes aérobies, levures, champignons filamenteux microscopiques ou exopolymères (biopolymères).
 Les microorganismes peuvent être utilisés en trois variantes tant comme biomasse vivante, immobilisée sur des divers supports absorbants (zeolite, silice) ou séchée par traitement thermique à 65...75°C.
 La méthode donne la possibilité de récupération des métaux lourds (cuivre, nickel, zinc) par l'immobilisation des cultures microbiennes sur des supports divers et le lavage du cuivre-0, après utilisation, avec une solution d'acide chlorhydrique 0,1 N.

Caractéristiques principales
 - L'obtention des eaux résiduaires traitées avec un contenu de métaux lourds comme:
 - Cu^{2+} = 0,02...0,2 mg/l
 - Ni^{2+} = 0,05...0,5 mg/l
 - Zn^{2+} = 0,05...0,8 mg/l
 - PH = 7...8,5

- La possibilité de la régénération des eaux traitées
 - La possibilité de la récupération des métaux lourds
 - L'absence des schémas qui résultent après le traitement
 - On n'utilise pas des réactifs chimiques après le traitement

Avantages:
 - L'augmentation de l'efficacité du processus de traitement et implicitement de la qualité des eaux résiduaires évacuées dans le milieu ambiant
 - La réduction des consommations de réactifs utilisés pour le traitement
 - La réduction des consommations énergétiques
 - La simplification du processus de traitement
 - Coût réduit tant pour la réalisation des installations que pour leurs fonctionnements et leurs maintenances
 - Ne constitue pas un facteur de pollution supplémentaire

Domaines d'utilisation: le traitement des eaux résiduaires qui résultent des actions de revêtements métalliques de divers domaines industriels comme: l'industrie des constructions mécaniques, auto, navale, électrotechnique, électronique etc.

Brevete, diplome, certificate de inventator și inovator, obținute de cercetătorii Departamentului



Brevete, diplome, certificate de inventator și inovator, obținute de cercetătorii Departamentului



Brevete, diplome, certificate de inventator și inovator, obținute de cercetătorii Departamentului



Brevete, diplome, certificate de inventator și inovator, obținute de cercetătorii Departamentului



Brevete, diplome, certificate de inventator și inovator, obținute de cercetătorii Departamentului



Brevete, diplome, certificate de inventator și inovator, obținute de cercetătorii Departamentului



REPUBLICA SOCIALISTĂ ROMÂNIA
CONSILIUL NAȚIONAL PENTRU ȘTIINȚĂ ȘI TEHNOLOGIE
OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI

Cluj-Napoca, 14.11

(11) DESCRIEREA INVENȚIEI 80407

(1) Complementul invenției nr.:	(5) Data:	(10) Int. C. P. C. 12 P. 5/80/7
(2) Denumire: 80406	(11) Data:	C. 82 P. 12/84
(3) Data înregistrării: 30.10.79	(12) Titlu:	
(4) Prioritate națională:	(13) Categoriile nr.:	
(6) Data:	(14) Data publicării: 30.10.80	
(7) Solicitant:	(15) Inventator:	(16) Titular:
Institutul de Științe Biologice, București	Dr. Biolog LAZAR IOAN, București	În altă formă (biologice, Cluj-Napoca)

(14) Substrat pentru producerea biogazului

1 Prezenta invenție se referă la un substrat pentru producerea biogazului, utilizat pentru producerea energiei vegetale biogaze în carciocaci.

2 Sînt cunoscute o serie de substraturi pentru producerea biogazului, cum sînt, de exemplu, amestecurile rezultate de la mătăsii compozite de creștere a animalelor și cele rezultate din stăpîni de rezonanță a apelor reziduale urdăreșilor sau ape reziduale din industria alimentară sau chimică sau biomasă vegetală, în deosebi cea arcașică, dar care prezintă dezavantajul că volumul de biogaz este destul de redus.

3 Se pune problema creării unui substrat pentru producerea biogazului care să aibă un randament mare și a cărui reacție pH să nu fie corelată permanent în timpul procesului de fermentație.

4 Compoziția, conform invenției, include următoarele compoziții cunoscute, prin aceea că, în scopul mării randamentului de biogaz, sînt formate din sîmț provenit de pe fibrele de la fabricile de zahăr 12 părți greutate, apă provenită de la spălonul sîclet 6 părți greutate, mătăsii 8150 părți greutate și mătăsii 6750 părți greutate.

5 Sîmțul din cadrul fabricilor de zahăr rezultă pe baza următorului proces:

6 În urma tratării mamei de sîclet cu hidroxid de calciu și oxid de carbon, mai întâi la 80°C și pH = 11,5 și apoi la 95°C și pH = 8,5, rezultă un precipitat care se reține în cadrul procesului tehnologic pe filtre. De pe filtre, precipitatul se colectează, se diluază cu apă industrială (sau de condens) și se evacuează în bălțile din timp din imediata vecinătate a fabricilor sub formă de aerosoli diluați (40% aerosoli). Precipitatul colectat pe filtre este reprezentat de amestecuri de carbonați de sodiu, potasiu și calciu și, de asemenea, de coloranți care sînt adsorbiți pe suprafața granulelor de carbonat. În acest precipitat sînt înglobați și o serie de acizi organici, ca: tartric, acetic, succinic, succinic, glutamic, malic și malonic. În precipitat sînt reținute și cantități mici de zahăr sub formă de subarț de calciu sau zahăr, ca atare, care pot adăuga ca zahăr polarizabil pînă la 2%. De asemenea, în precipitat mai sînt prezente săruri ale amoniacului, substanțe peptice și baze organice. În practică, 80% din compoziția sîmțului este reprezentată de carbonat.

7 După cum se constată, prin compoziția sa chimică, sîmțul reprezintă un suport favorabil dezvoltării microorganismelor. În perioada de primăvară, vară

80407

PREȚUL LEI 3.79

Brevete, diplome, certificate de inventator și inovator, obținute de cercetătorii Departamentului



1981

...industria extractivă și energetică

Dr. IOAN LAZĂR.

Șeful Laboratorului de microbiologie,
Institutul de Științe Biologice - București

În contextul revoluției biologice actuale, al extinderii și pătrunderii biotehnologiei în cele mai diverse domenii ale economiei, problemele legate de alimentația și energia viitorului capătă noi valențe și dimensiuni. În prezent, într-o serie de țări avansate economic există o bogată experiență, programe cu largi perspective atât în ceea ce privește biologia și resursele de proteine, cât și în ceea ce privește biologia și noile surse de energie. În țara noastră, politica partidului și statului, sarcinile ce se desprind din Programele directive adoptate de Congresul al XII-lea al P.C.R., indicațiile primite direct de la secretarul general al partidului, tovarășul Nicolae Ceaușescu, cu prilejul vizitării Institutului de Științe Biologice în anul 1974 și 1979, ca și indicațiile ce se desprind de la Constatările de lucru cu activul din domeniul geologiei din octombrie 1980, sînt deosebit de favorabile dezvoltării unui program național de biotehnologie, program care se află în momentul de față într-o fază avansată de elaborare și care este orientat spre soluționarea problemelor majore ale economiei noastre.

În urma activității de pînă acum a Laboratorului de microbiologie din cadrul Institutului de Științe Biologice București s-au obținut deja o serie de rezultate care se bucură de atenția diferitelor unități beneficiare. Ne vom referi la cîteva dintre acestea.

Cercetările de laborator, urmate în ultimii 4 ani de experiențe în șanțier, au demonstrat că folosirea bacteriilor în pro-

cesele de eliberare a țitelului din zăcămintele contribuie la creșterea debitelor de țitel la sonde.

Metodele microbiologice de stimulare a eliberării țitelului din zăcămintele se bazează pe ideea injectării în zăcămintele populațiilor bacteriene împreună cu un suport nutritiv prin a cărui degradare rezultă importante cantități de gaze, de scizi organici și de substanțe tensioactive, produse ce favorizează eliberarea țitelului remanent în rocă. Prin acest procedeu, pus la punct și îmbunătățit pentru prima dată în țară de către laboratorul nostru — în strînsă colaborare cu specialiștii Institutului de cercetări și proiectări pentru petrol și gaze Clmpina, ca și cu cei din trusturile petrolului și schelelor, unde s-au efectuat peste 50 de operații în șanțier —, s-a demonstrat că la zăcămintele ce îndeplinesc condițiile impuse de metoda microbiologică se obțin creșteri ale debitelor de țitel la sonde între 15 și 150%. Mai concret, precizăm că la sonde la care înainte de aplicarea metodei microbiologice producția era, de exemplu, de 0,9—1,0 tone de țitel/zi, după aplicarea injecției cu bacterii, debitul de țitel a crescut la 1,4—1,5 tone/zi. Durata efectelor pozitive ale metodei a fost de la 1 pînă la 4 ani. (Procentele ridicate au fost înregistrate însă la sonde cu producție de pînă la 0,5 tone de țitel/zi).

Deoarece metoda microbiologică este deosebit de ieftină și poate fi aplicată folosind utilajele existente în schele etc., în 1981—1982 ea va fi experimentată la



zăcămintele care includ un număr mai mare de sonde, în vederea stabilirii tuturor posibilităților de extindere la scară industrială a metodei.

În ultimii ani, astfel de cercetări se realizează cu intensitate sporită în multe țări producătoare de țitel, iar experiența românească se află în atenția specialiștilor și a unor manifestări științifice de prestigiu, care au inclus în programele lor lucrările noastre.

Paralel cu cercetările privind stimularea eliberării țitelului prin injectarea sondaților cu inocul bacterian special adaptat zăcămintelor de țitel, în ultimii doi ani, de asemenea în strînsă colaborare cu Institutul din Clmpina, au început cercetările legate de obținerea de polizaharide bacteriene (biopolimeri), care urmează să fie folosite pentru dialocuirea țitelului din rocile colectoare. Pînă în prezent s-au selecționat tulpini bacteriene cu înalt randament de biosinteză a biopolimerilor, iar biopolimerul obținut de noi în fază de laborator este apreciat de specialiștii Institutului din Clmpina ca fiind calitativ similar și deci competitiv cu produsele americane.

O altă direcție legată tot de industria extractivă, în care laboratorul nostru a acumulat rezultate și o experiență utilă, se referă la folosirea bacteriilor pentru extragerea metalelor din minereuri sărace sau halde și pentru îndepărtarea sulfului din cărbune. Într-o serie de țări din lume, printre care și în unele țări vecine, cum este de exemplu Bulgaria, importante cantități de cupru (pînă la 20% și chiar mai mult din producția anuală) se extrag prin metoda microbiologică. Cercetările noastre efectuate în colaborare cu specialiștii din institutele de profil din Baia Mare și Deva au fost pînă în prezent concentrate asupra solubilizării bacteriene a cuprului și uraniului, iar în cîincinul 1981—1985 vor fi extinse și la alte elemente utile, cum sînt zincul, plumbul, nichelul, manganul, cobaltul etc. Studiile în fază de laborator au permis obținerea de populații bacteriene active pe linia extragerii cuprului, populații preluate de specialiștii din rețeaua unităților beneficiare în vederea trecerii la folosirea acestora în practică. Contribuții importante s-au adus și pe linia unei cât mai bune cunoașteri a factorilor fiziologici și ecologici care in-

HIDROGEN CU AJUTORUL MICROORGANISMELOR

Există trei posibilități de producere a hidrogenului pe cale biologică, și anume cu ajutorul bacteriilor fotosintetice (fotoproducere), din apă prin fotosinteză sau prin bifotoliză și din materii organice la întuneric prin fermentare.

Este cunoscut că microorganismele fototrofe produc hidrogen prin procese anaerobe, factorul stimulator fiind lumina. Se apreciază că pe medii simple și letifine, microorganismele fototrofe (cianobacteriile sau bacteriile fototrofe, cum sînt cele din familiile Rhodospiraceae, Chromatiaceae și Chlorobiaceae, sau unele alge verzi sau roșii) realizează mari cantități de hidrogenază, enzima cu ajutorul căreia se poate obține hidrogen într-un sistem artificial.

Specialiștii apreciază că aplicațiile practice ale acestei căi de obținere a hidrogenului nu sînt posibile mai devreme de anul 2000, deoarece înseși cercetările fundamentale de laborator sînt foarte puțin avansate.

Referitor la obținerea hidrogenului prin bifotoliză apei, precizăm că ideea se sprijină pe faptul că cianobacteriile și algele folosesc apa ca un donator de electroni în fotosinteză și că astfel de fototrofe sînt capabile să genereze hidrogen din apă pe baza utilizării energiei luminoase. În condiții naturale, absorbția radiațiilor solare de către plantele verzi și alge duce la oxidarea apei, oxigenul fiind eliberat, iar hidrogenul asimilat, de obicei, în constituenții celulari. În condiții speciale, acest proces ar putea fi modificat în așa fel încît hidrogenul molecular să fie eliberat. Avînd în vedere că bifotoliză apei se bazează pe activitatea cioroplastelor și hidrogenazei, pentru a rezolva problema producerii hidrogenului se impune o dereglare a funcțiilor cioroplastelor printr-o iluminare prelungită și o dereglare a hidrogenazei de către oxigenul eliberat în timpul procesului. Rezolvarea practică a acestor probleme necesită, așa cum precizează specialiștii, cel puțin 30 de ani de cercetare.

În sfîrșit, a treia posibilitate, anume aceea a producerii hidrogenului prin fermentare, se bazează pe ideea că un compus organic, cum este, de exemplu, glucoza, poate fi fermentat de către microorganismele cu producere de hidrogen. Dar, avînd în vedere că prin fermentarea materii organice producția de metan este mult mai mare (cca 85%) față de cea de hidrogen (cca 15—20%), pare mai rentabil să se meargă pe linia obținerii de metan și nu de hidrogen. (Ioan Lazăr)

dezintegrate) și că enzime legate de constituenții celulari, adică acelea prezente în celulele dezintegrate (în fragmentele celulare), în celulele vii, dar nepliferante. Enzimele microorganismelor proliferante sînt cele care se eliberează din celulele vii aflate în curs de multiplicare și care se găsesc în interiorul celulelor în curs de multiplicare.

Enzimele libere sînt adsorbite pe particulele organice și minerale din nămol sau și complexate cu substanțe humice. Cantitatea lor este mult mai mică în soluția nămolului decît în stare adsorbită sau și complexată.

Activitatea enzimatică a nămolurilor terapeutice a început să fie studiată numai în ultimul timp de un număr redus de cercetători. În Uniunea Sovietică, Bilianskii (1956) a determinat activitatea unei enzime (catalază) și numărul microorganismelor în probe de nămol terapeutic provenite din lacul Kiuaiînki (Odesa) și a constatat existența unui paralelism între valorile activității catalazice și numărul microorganismelor. S-a ajuns astfel la concluzia că microorganismele constituie sursa catalazei din acest nămol.

În Cehoslovacia, alți doi cercetători, Brožek și Pokorná (1958), au studiat proprietățile fizice, chimice și biochimice ale unei turbe sulfuroase, în funcție de numărul utilizărilor ei pentru prepararea băilor terapeutice și au stabilit că proprietățile fizice și chimice ale turbei nu au suferit modificări semnificative. Activitatea catalazică a rămas constantă. Dar au avut loc schimbări mari ale activităților celorlalte enzime studiate: amilaza a dispărut de la prima utilizare, invertaza și ureaza au arătat tendințe de scădere în timpul utilizărilor repetate. Pokorná (1962) a comparat activitatea enzimatică a nămolurilor de la Pleštany și Bojnice, utilizate în terapeutică, și a constatat că nămolul de la Pleštany a fost mult mai activ decît cel de la Bojnice.

În literatura noastră de specialitate există relativ puține date referitoare la activitatea microorganismelor și practic au lipsit cele referitoare la activitatea enzimatică a nămolurilor terapeutice. Cu cîțiva ani în urmă am luat în studiu mai multe nămoluri terapeutice provenite din lacurile de la Sovata, Techirghiol, Slănic-Prahova, Ocna Sibiului, Nuntăși, Cojocna, Bălața, la care am urmărit evidențierea mai multor activități enzimatică: fosfatazică, catalazică și dehidrogenază (reducerea enzimatică a TTC = clorură de trifeniltetrazolul) și neenzimatică (activitatea catalitică totală, reducerea neenzimatică a TTC). Aceste activități depind de tipul de nămol (vezi schema).

Prin compararea activităților enzimatică și catalitice neenzimatică (cele menționate mai sus) ale diferitelor tipuri de nămoluri colectate din lacurile Ursu, Roșu, Mierlei și Negru de la Sovata, s-a constatat că aceste activități, măsurate trimestrial de-a lungul unui an, au fost mai constante, mai puțin variabile în nămolurile negre și cenușii onctuoase decît în sedimentele nisipoase. Dintr-o altă comparație, bazată pe două criterii (valoarea medie anuală și variabilitatea anuală minimă a activităților enzimatică, respectiv catalitice neenzimatică ale nămolurilor) a reieșit că lacurile Roșu, Mierlei și Negru nu se deosebesc atît de evident între ele, dar se disting de lacul Ursu (cu nămolul cel mai activ; vezi și tabelul).

În alte cercetări am avansat ideea utili-

DEPOLUARE MICROBIOLOGICĂ

Principalele direcții care au în vedere folosirea metodelor microbiologice în strînsă legătură cu sănătatea omului și protecția mediului înconjurător se referă la: elaborarea de procese sau tehnologii microbiene specifice prin care să se realizeze desulfurarea și denitrificarea șteiului, cărbunelui și gazelor; selecția de microorganisme speciale capabile să producă degradarea șteiului brut și coprodusele acestuia rîspîndite în mediul înconjurător; elaborarea de tehnologii microbiene care să asigure îndepărtarea substanțelor cancerigene din cărbuni etc.

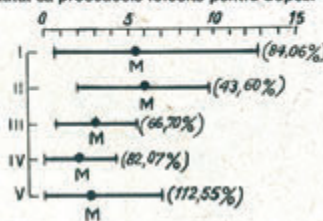
În prezent este unanim recunoscut că poluarea acută a aerului este determinată de eliberarea bioxidului de sulf rezultat din arderea de combustibili cu un conținut ridicat de sulf. De exemplu, conținutul în sulf al diferitelor tipuri de ștei variază între 0,025 și 5%, iar al cărbunilor, tehnologiile actuale pot asigura o îndepărtare de pînă la 80% a sulfului anorganic sau piritic și de cca 40% a sulfului organic. Costul unei astfel de desulfurări se apreciază că duce la o creștere a prețului tonei de cărbune de la 2 dolari la aproximativ 40 de dolari. Cu toate acestea, cărbunele desulfurat este mai ieftin decît cărbunele brut, dacă se luă în considerație toate beneficiile aduse de folosirea sa. În ultimul deceniu au început să apară lucrări, inclusiv în țara noastră, care

demonstrează capacitatea unor grupe speciale de bacterii de a îndepărta sulful din cărbune, ceea ce deschide perspectiva înlocuirii metodelor chimice — ineficiente pentru anumite tipuri de cărbuni — cu metoda microbiologică. Aceasta este aplicată, de asemenea, și în cazul combustibililor rezultați în urma lichefierii sau gazeificării cărbunilor care conțin sulf.

Studiul microbiologic al cărbunilor prezintă interes și dintr-un alt punct de vedere. Este vorba de efectul cancerigen al diferitelor hidrocarburi aromatice poliziclice conținute în cărbuni. În această situație degradarea bacteriană a hidrocarburilor incriminate, dealtfel una dintre cele mai recente direcții de cercetare, prezintă un interes deosebit.

O altă aplicație importantă a microbiologiei se referă la depoluarea apelor care conțin ștei sau produse petrolifere. Transportul oceanic al șteiului, ca și exploatarea zăcămintelor de ștei din mări, prin extinderea forajului marin, au dus în ultimii ani la o proliferare a contaminării apelor cu ștei și deci la complexe implicații ecologice. În acest context, alături de metodele mecanice și chimice folosite pentru depoluarea apelor cu ștei, metodele microbiologice — bazate pe capacitatea bacteriilor de a degrada șteiul — ocupă un loc aparte. (Ioan Lazăr)

zării metodelor enzimologice pentru evaluarea procedeelelor care este supus nămolul în fluxul balneoterapeutic. Am constatat că procedeele folosite pentru depozita-



Activitatea fosfatazică în diferite tipuri de nămol. I — nămol pelogen; II — nămol negru onctuos; III — nămol cenușiu onctuos; IV — nămol negru-cenușiu nisipos; V — nămol galben nisipos; VI — valoarea medie anuală a activității. (Coeficienții de variabilitate anuală sînt trecuți în paranteză.)

POZITIA LACURILOR URȘU, ROȘU, MIERLEI ȘI NEGRU COMPARATE PE BAZA VALORILOR MEDII ANUALE ALE ACTIVITĂȚILOR ENZIMATICE, RESPECTIV CATALITICE NEENZIMATICE ALE PROBELOR DE NĂMOL

Activitatea	Poziția			
	1	2	3	4
Enzimatică:				
Fosfatazică	Mierlei > Ursu > Negru > Roșu			
Catalazică	Roșu > Mierlei > Ursu > Negru			
Reducerea enzimatică a TTC, în probe nesterilizate, fără adăos de glucoză	Ursu > Negru > Roșu > Mierlei			
Reducerea enzimatică a TTC, în probe nesterilizate, cu adăos de glucoză	Ursu > Roșu > Negru > Mierlei			
Neenzimatică:				
Activitatea catalitică (Scindarea H ₂ O ₂)	Mierlei > Roșu > Negru > Ursu			
Reducerea neenzimatică a TTC, în probe sterilizate, fără adăos de glucoză	Ursu > Roșu > Negru > Mierlei			
Reducerea neenzimatică a TTC, în probe sterilizate, cu adăos de glucoză	Ursu > Negru > Roșu > Mierlei			



Nodozitățile specifice rădăcinilor leguminoaselor conțin bacterii fixatoare de azot.

Fixarea biologică a azotului

ION VĂTAFU, *biolog principal,*
Institutul de științe biologice - București

Azotul este un element chimic indispensabil prin faptul că intră în constituția substanțelor proteice, substanțe caracteristice vieții.

În natură, plantele utilizează pentru producerea aminoacizilor necesari lor surse de compuși azotați din sol, pe care-i prelucreează în procesele metabolice, ele (cu atât mai puțin animalele) nefiind capabile să folosească azotul atmosferic direct, ci numai din compuși anorganici. Sursa de azot pentru plante nu se reînnoiește. Azotul apare deci ca un factor limitativ în creșterea producției agricole.

În scopul depășirii acestui impas s-au pus la punct o serie de metode de obținere a compușilor azotați, care să fie întrebunțați ca îngrășăminte chimice. Procedeu cel mai utilizat de realizare pe cale industrială a amoniacului este cel denumit HABER-BOSCH, procedeul ce folosește ca materie primă azotul din aer și gazul metan. El necesită însă o cantitate enormă de energie și o presiune ridicată. Or, în condițiile actuale, cînd în lume cantitatea de îngrășăminte azotate cerute de agricultură crește în mod vertiginos an de an, atîngînd în ultima vreme peste 5 milioane de tone, iar criza energetică nu permite extinderea capacităților de obținere a îngrășămintelor azotate pe cale chimică, se pune cu tot mai multă acuitate problema găsirii unor noi posibilități de realizare a necesarului de azot pentru creșterea producției vegetale.

ZAHĂR CARE NU ÎNGRAȘĂ

500 000 t de sirop de fructoză sînt fabricate în fiecare an în Japonia pentru industria alimentară, grație unor procedee enzimatice. Amidonul din porumb este transformat în glucoză, care, la rîndul ei, este transformată în fructoză cu ajutorul unei enzime bacteriene, glucozizomeraza. Acest sirop are o putere de îndulcire superioară zaharozei clasice și glucozei, la un număr mai mic de calorii. Așadar, vom putea minca dulciuri fără să ne îngrășăm.

Se știe de mai multă vreme că în natură există microorganismele capabile să realizeze în mod natural fixarea azotului din atmosferă. Unul dintre acestea este Azotobacter, care trăiește liber în sol în prezența oxigenului (aerob), dar al cărui randament de fixare a azotului este foarte mic. Procesele respiratorii la Azotobacter sînt foarte intense și probabil că prin intermediul lor se realizează în același timp și protecția enzimelor implicate în fixarea azotului față de oxigen.

Un alt tip de microorganismele libere, fixatoare de azot este cel reprezentat de Klebsiella, bacterii care pot să trăiască în mediu anaerob (în absența oxigenului), numai în aceste condiții realizînd fixarea biologică a azotului. Sînt microorganismele mult studiate și utilizate în experiențele de inginerie genetică privind transferul genelor «nif».

Cel mai interesant tip de microorganismele ce fixează azotul atmosferic îl constituie bacteriile din genul Rhizobium. Ele realizează acest proces după ce produc nodozități specifice pe rădăcinile plantelor leguminoase. În asociația simbiotică Rhizobium-plantă leguminoasă, cea din urmă asigură și protecția bacteriilor față de oxigen, prin intermediul leghemoglobinei (o substanță de natură proteică). În urma simbiozei respective, ambii parteneri au de cîștigat: bacteria primește de la planta gazdă sursa de energie (zaharuri), iar planta beneficiază de azotul fixat de bacterie (pe care aceasta i-l cedează).

Se estimează că anual, prin procesul de fixare a azotului de către toate aceste tipuri de bacterii, ajung în sol aproximativ 150-175 milioane tone de azot, cantitate din păcate insuficientă la ora actuală pentru obținerea unor recolte mari în agricultură.

Modul cum realizează bacteriile fixarea azotului atmosferic a fost mult studiat și în prezent este destul de bine cunoscut. Cercetările efectuate la nivel molecular au relevat existența unui complex enzimatic denumit nitrogenază; aici are loc transformarea azotului molecular în ioni de amoniu. Nitrogenaza este extrem de sensibilă la oxigen, prezența acestuia inhibînd producerea ei. Sărurile de azot îi inhibă, de asemenea, activitatea.

Pentru îmbunătățirea randamentului de fixare a azotului atmosferic de către microorganismele menționate s-au propus mai multe metode. Una dintre ele este aceea a obținerii de mutante la speciile de Rhizobium, care să fixeze azotul în permanență; adică să se lucreze la nivelul materialului genetic al bacteriilor respective în așa fel încît genele, care reglează activitatea nitrogenazei, să fie modificate și să nu mai poată oprî activitatea acestora. Se presupune că astfel se va mări cantitatea de azot în sol și se va reduce necesarul de îngrășăminte chimice.

O altă linie de cercetare constă în realizarea unor bacterii fixatoare de azot libere, care să crească pe medii bogate în surse de carbon și care să producă o cantitate destul de mare de azot în compuși organici.

În lume se mai fac cercetări și pentru introducerea genelor «nif» — răspunzătoare de producerea nitrogenazei — la alte tipuri de bacterii ce trăiesc în sol. În ideea realizării unor cantități mai mari de azot fixat în sol. În acest scop se folosesc tehnici de inginerie genetică ce permit clonarea materialului genetic de la Klebsiella pe factori extracromozomați (plasmide); prin intermediul lor, el poate ajunge apoi la alte bacterii.

A mai fost avansată o idee foarte îndrăznească, necesînd însă investigații mult mai ample, și anume aceea a introducerii genelor răspunzătoare de fixarea biologică a azotului direct în celulele plantelor. Este o problemă ce aparține, deocamdată, unui viitor mai îndepărtat.

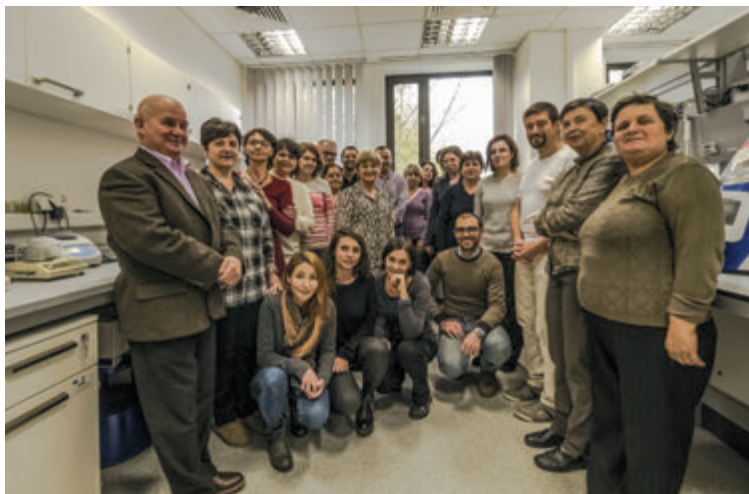
Cîteva dintre studiile privind îmbunătățirea randamentului de fixare a azotului în mod natural constituie, dealtfel, și preocupări ale Institutului de științe biologice din București. Astfel, Laboratorul de microbiologie și inginerie genetică bacteriană a abordat problemele transferului genelor «nif» la bacterii. Una dintre cercetări a constat în introducerea genelor «nif» — prin conjugare și prin transformare — la bacterii de colecție și la tulpini bacteriene izolate din sol. Cu ajutorul gaz-cromatografului s-a demonstrat că bacteriile receptoare au primit genele «nif», care au devenit și funcționale. În atenția noastră se află și problema îmbunătățirii randamentului de fixare a azotului de către bacteriile simbiote (Rhizobium), prin prelucrarea materialului lor genetic. Dar ceea ce ne preocupă în prezent cel mai mult este realizarea unor molecule de ADN recombinant prin tehnici de inginerie genetică, ADN ce poartă genele răspunzătoare de fixarea biologică a azotului. El poate fi introdus apoi în alte tipuri de bacterii care trăiesc în apropierea rădăcinilor plantelor de cultură și care, prin activitatea lor, măresc cantitatea de azot din sol, substanță atât de necesară plantelor.

IMAGINI CU PERSONALUL DEPARTAMENTULUI ȘI EVOLUȚIA LABORATOARELOR ÎN TIMP

Echipa Departamentului, în anul 2016



Echipa Departamentului,
în anul 2016



Echipa Departamentului,
în anul 1997

Echipa Departamentului,
în anul 2005



Echipa de cercetare în domeniul bioremedierii



Echipa de cercetare a dr. Cristina
Purcărea, în anul 2012



Echipa Departamentului,
în anul 2010





Inaugurarea
Infrastructurii
de cercetare,
de la Sulina,
în anul 2016

Acad. Octavian Popescu (2016)



Acad. Octavian Popescu,
dr. Mădălin Enache,
dr. Gheorghe Brezeanu,
acad. Marian Traian Gomoiu,
la inaugurarea infrastructurii
de cercetare la Sulina,
în anul 2015

Ana Dinu, dr. Medana
Zamfir, Paula Dicul,
drd. Ștefan Roxana,
dr. Silvia Grosu-Tudor



Dr. Gabriela Teodosiu,
dr. Mihaela Stancu,
Nina Maranca, Paula Dicul,
Mândica Cojocar,
drd. Simona Neagu

Dr. Gabriela Teodosiu,
Corina Văcăroiu,
Mândica Cojocar,
drd. Simona Neagu,
drd. Roxana Cojoc,
Nina Maranca





Nina Maranca,
Paula Dicul,
Măndica Cojocaru,
Maria Tudorescu

Dr. Gabriela Teodosiu,
dr. Mădălin Enache,
dr. Cristina Purcărea,
la Conferința SNBC
de la Cluj-Napoca,
în 2008



Dr. Mădălin Enache,
dr. Gabriela Teodosiu,
dr. Elena Popa,
dr. Cristina Purcărea,
la Conferința SNBC
de la Cluj-Napoca,
în 2008



Nina Maranca,
Măndica Cojocar,
drd. Roxana Cojoc,
Răzvan Filimon,
Corina Văcăroiu,
drd. Simona Neagu



Dr. Medana Zamfir



Dr. Gabriela Teodosiu,
dr. Medana Zamfir,
dr. Mihaela Stancu,
dr. Silvia Grosu-Tudor

Cristina Rădulescu,
Corina Văcăroiu





Dr. Lucia Dumitru,
dr. Ana-Maria Faghi,
Cătălina Pantelimon



dr. Elena Popa,
Corina Văcăroiu



Echipa Departamentului,
în anul 2016

Participarea membrilor Departamentului la conferințe științifice de specialitate





Participare
la conferința
științifică
de la Chișinău,
Moldova,
din anul 2016



Dr. Ana-Maria Faghi,
Cătălina Pantelimon,
Elena Albu



Dr. Mihaela Stancu,
Florentina Negre
dr. Silvia Grosu-Tudor,
dr. Mădălin Enache



Dr. Medana Zamfir,
dr. Silvia Grosu-Tudor,
dr. Mădălin Enache,
dr. Mihaela Stancu

Dr. Ion Vernescu,
dr. Ioana Gomoiu,
dr. Ion Lazăr,
dr. Jana Neculce,
dr. Ion Ioniță,
dr. Ion Moisa



Dr. Smaranda Dobrotă,
dr. Ioana Gomoiu,
dr. Doina Ionică,
dr. Constantin Arion,
dr. Viorica Velehorschî,
dr. Lelia Șotropă,
dr. Ion Lazăr

Aspecte din laboratoare, în anul 2009



Sediul IBB,
în anul 2009



Aspecte din IBB, în anul 2008



Aspecte din laboratoarele Departamentului, în anul 2009



Aspecte din laboratoarele Departamentului, în anul 2009



Aspecte din laboratoarele Departamentului, în anul 2009



Aspecte din laboratoarele Departamentului, în anul 2009



Biroul academicianului
Gheorghe Zarnea, în anul 2009



Spațiile tehnice
ale Departamentului,
în anul 2009



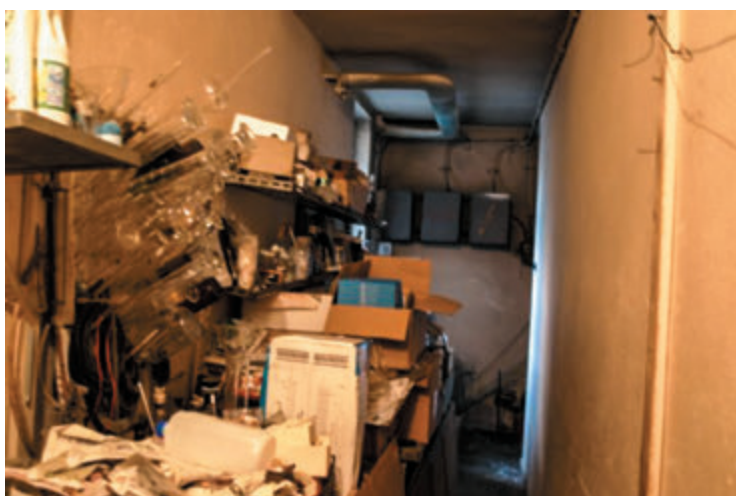


Spațiile tehnice
ale Departamentului,
în anul 2009



Biblioteca IBB
în anul 2009

Spațiile tehnice ale Departamentului, în anul 2009



Aspecte din laboratoarele Departamentului, în anul 2009

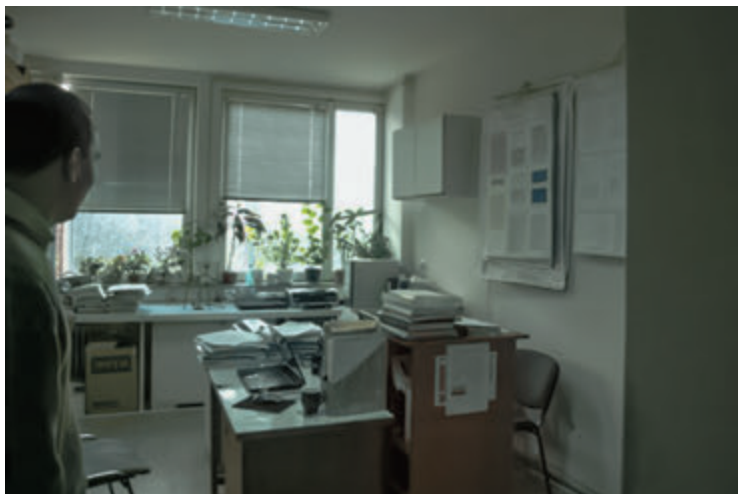


Laboratorul de bioremediere,
în anul 2009



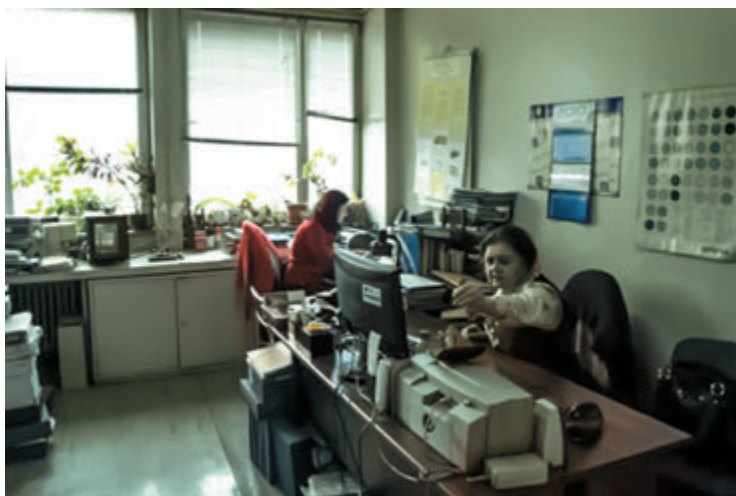
Laboratorul de biopolimeri,
în anul 2009





Biroul dr. Mădălin Enache,
în anul 2009

Biroul dr. Lucia Dumitru,
în anul 2009

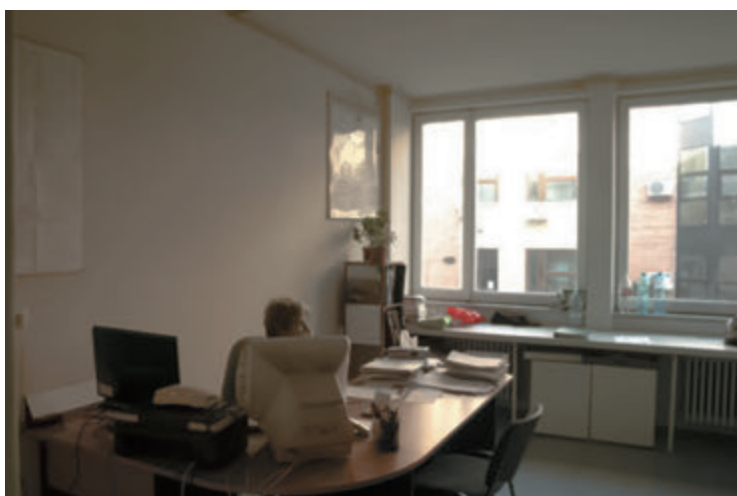
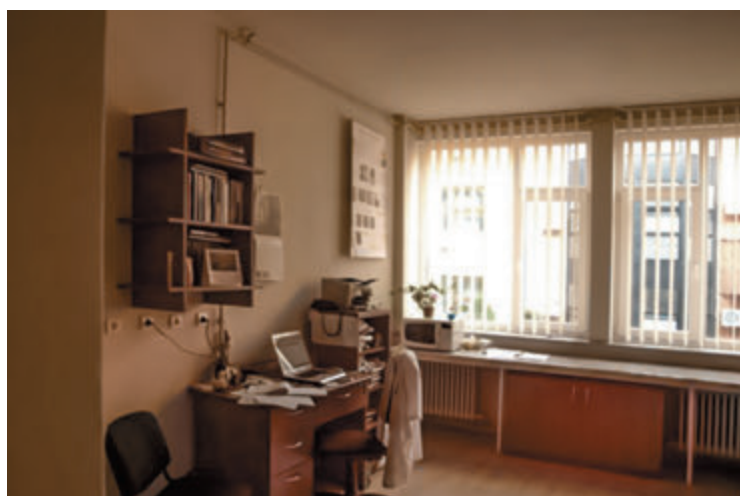
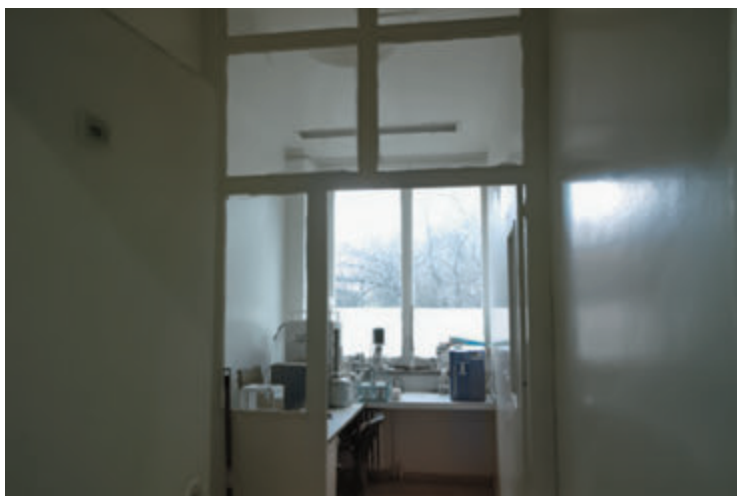


Laboratorul de genetică,
în anul 2009

Laboratorul de biologia microorganismelor halofile, în anul 2009



Birourile cercetătorilor din Departament, în anul 2009



Birourile cercetătorilor din Departament, în anul 2009

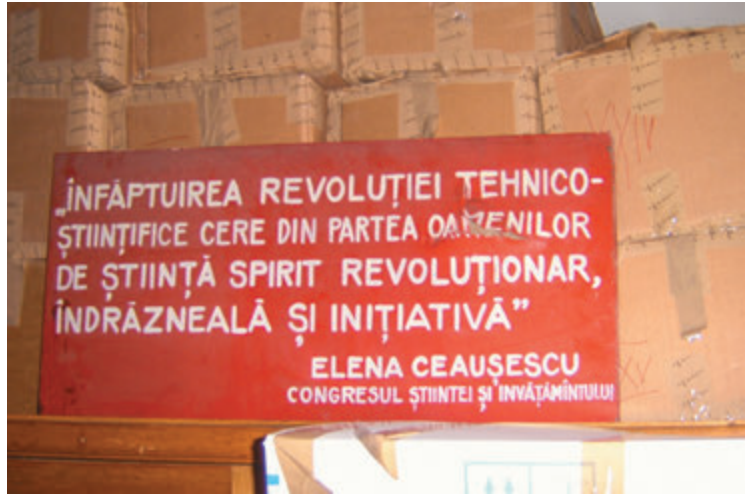




Aspecte din IBB,
în anul 2009



Placa de identificare
a punctului de lucru,
de la Sulina,
înaintea de anul 1990



Începutul procesului de reconstrucție, în anul 2010



Aspecte din perioada de reconstrucție (2010 – 2012)



Aspecte din perioada de reconstrucție (2010 – 2012)



Aspecte din perioada de reconstrucție (2010 – 2012)

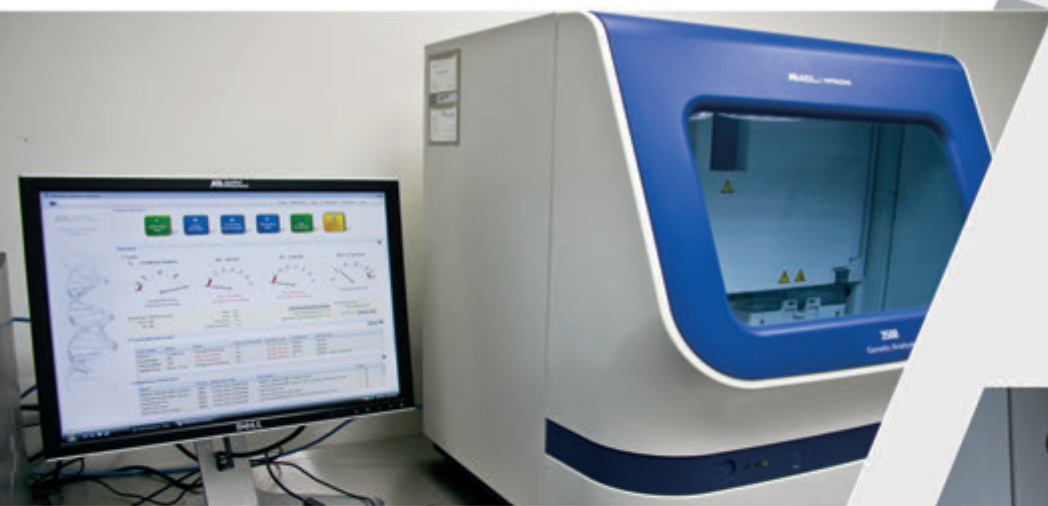






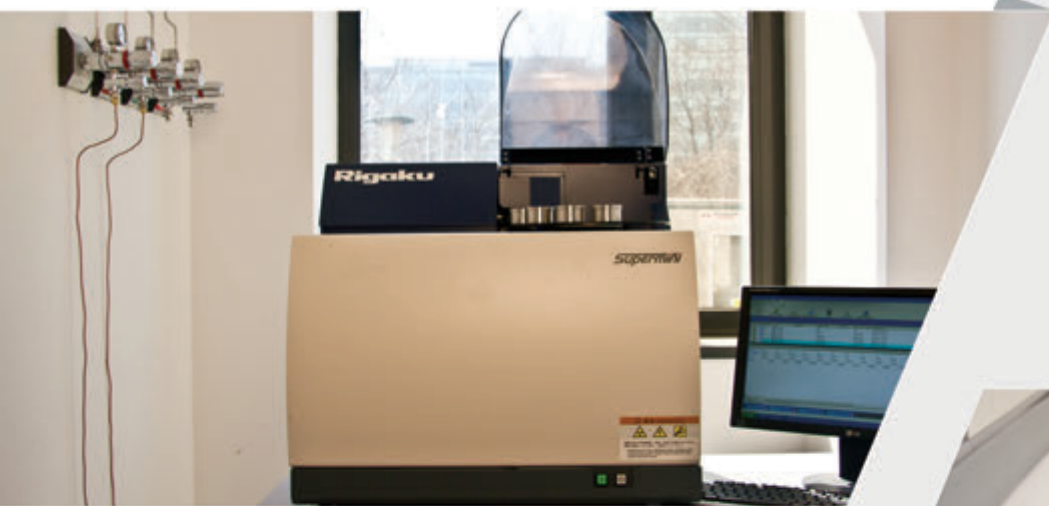
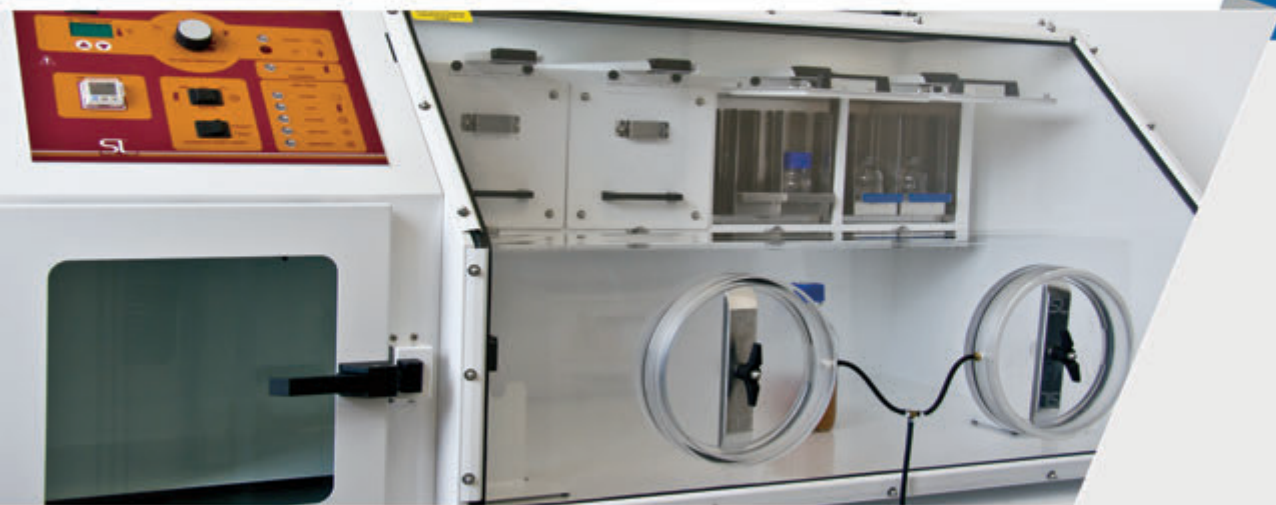
www.ibiol.ro

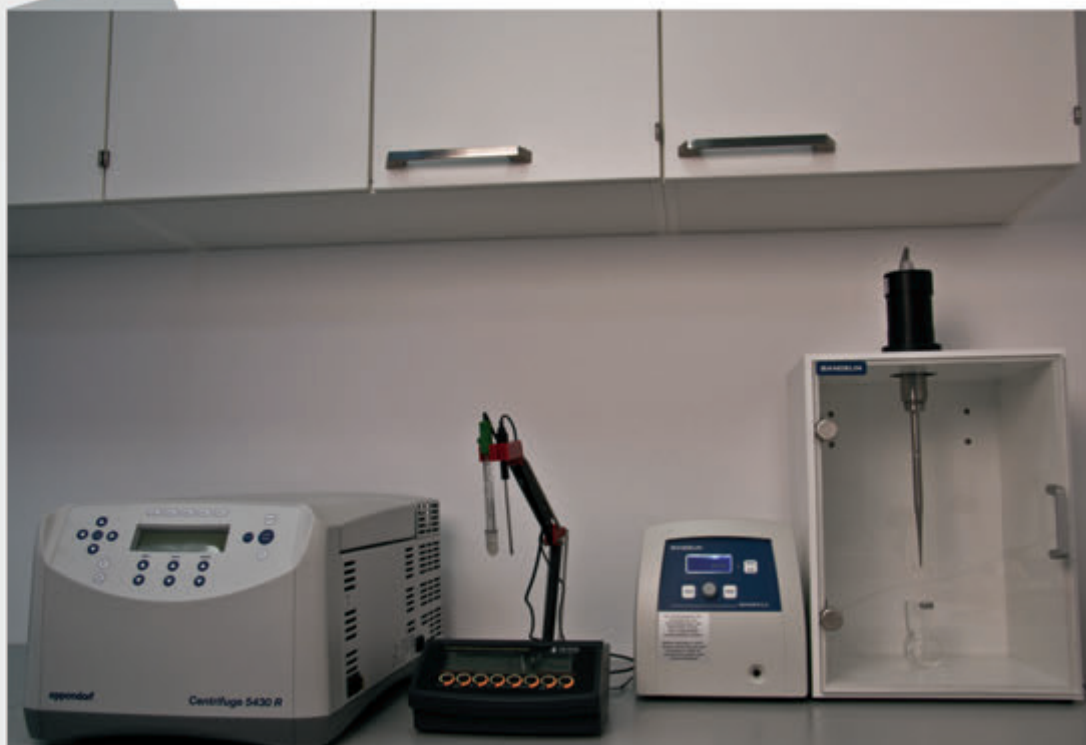




www.ibiol.ro



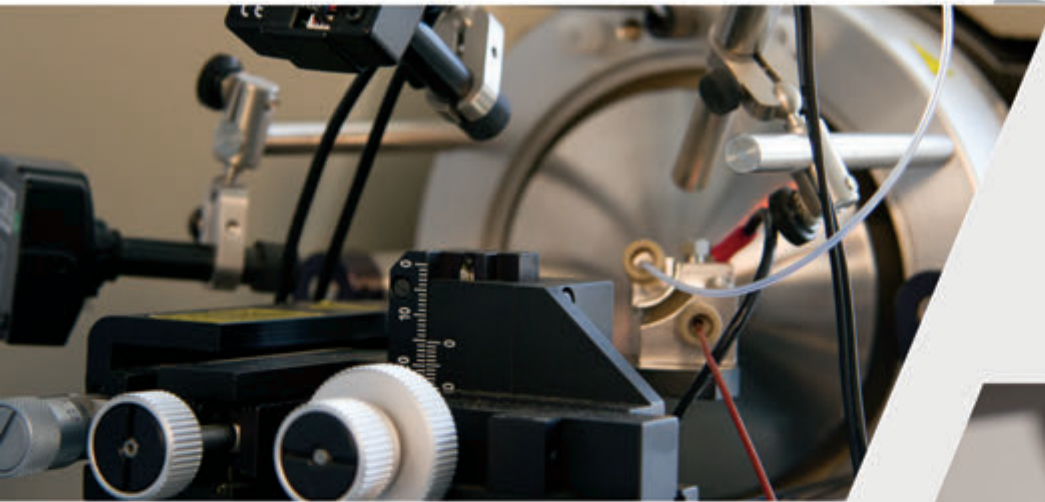






www.ibiol.ro

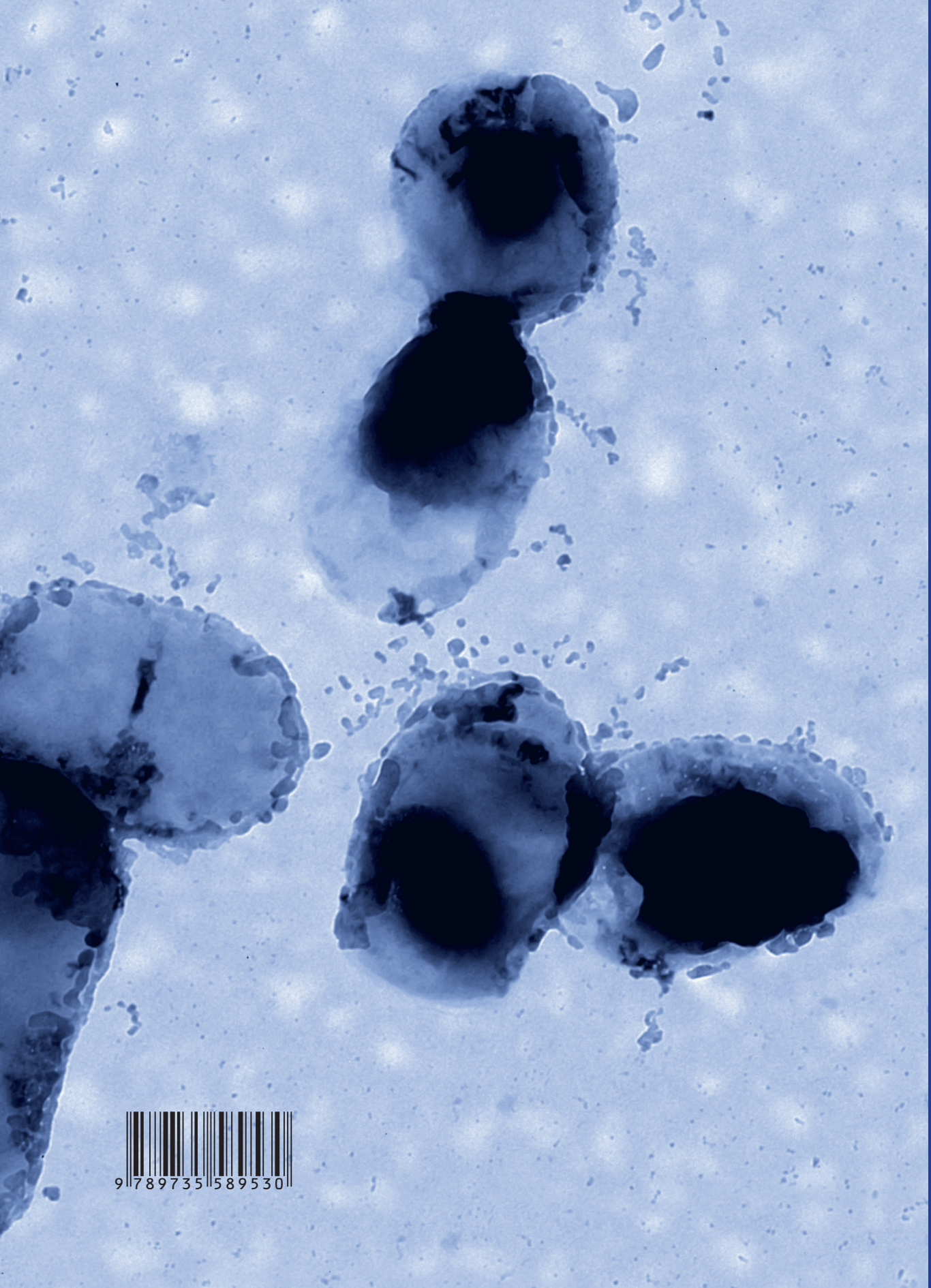




www.ibiol.ro

Fotografiile și materialele care se regăsesc în cuprinsul volumului au fost obținute prin amabilitatea dr. Mugur Ștefănescu, dr. Elena Popa, dr. Cristina Purcărea și Paula Dicul.

Organizatorii sesiunii științifice le mulțumesc atât lor, cât și tuturor persoanelor care s-au implicat în realizarea acestui volum.



9 789735 589530