

# STUDIUL PROPRIETĂȚILOR MORFO-CULTURALE ȘI BIOSINTETICE ALE MICROMICETELOR ÎN FUNCȚIE DE MEDIUL DE CULTURĂ

## STUDY OF MORPHOCULTURAL AND BIOSYNTHETIC PROPERTIES OF MICROMYCETES DEPENDING ON THE CULTURE ENVIRONMENT

CZU: 612.39:663.15

<https://doi.org/10.56329/1810-7087.23.2.13>

DRD. VERONICA BUGNEAC,  
FACULTATEA MEDICINĂ VETERINARĂ  
VERONICA.BUGNEAC@GMAIL.COM  
[HTTPS://ORCID.ORG/0000-0007-8427-5333](https://orcid.org/0000-0007-8427-5333)

CONF. CERC. DR. TAMARA SÎRBU,  
ȘEF AL COLECȚIEI NAȚIONALE DE MICROORGANISME NEPATOGENE,  
INSITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE  
TEL. 022739609, [TAMARA.SIRBU@IMB.UTM.MD](mailto:TAMARA.SIRBU@IMB.UTM.MD).  
[HTTPS://ORCID.ORG/0000-0001-7809-9870](https://orcid.org/0000-0001-7809-9870)

PROF. UNIV. DR. HAB. NICOLAE STARCIUC,  
NICKSTARCIUC@YAHOO.COM  
[HTTPS://ORCID.ORG/0000-0001-5176-8499](https://orcid.org/0000-0001-5176-8499)

UNIVERSITATEA TEHNICĂ A MOLDOVEI

### ABSTRACT

Following the study of the morphocultural and biosynthetic properties of micromycetes, depending on the nutrient medium used, it was established that the culture medium significantly affects both the morphocultural and biosynthetic characteristics of the strains studied. The optimal nutrient medium for the studied strains is malt agar. Micromycete strains cultivated on this medium have a higher sensitivity to the pathogens *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* and *Paenibacillus larvae* compared to the tested nutrient media of Czapek, Sabouraud and starch-ammonia.

**Keywords:** *micromycetes; nutrient medium; pathogens; morphocultural features; zone of inhibition.*

### РЕЗЮМЕ

**Изучение морфокультурных и биосинтетических свойств микромицетов в зависимости от среды культивирования.** В результате изучения морфокультуральных и биосинтетических свойств микромицетов в зависимости от используемой питательной среды установлено, что культуральная среда существенно влияет как на морфокультуральные, так и на биосинтетические характеристики изучаемых штаммов. Оптимальной питательной средой для изучаемых штаммов является солодовый агар. Культивируемые на этой среде штаммы микромице-

тов обладают более высокой чувствительностью к возбудителям *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* и *Paenibacillus larvae* по сравнению с испытуемыми питательными средами Чапека, Сабуро и крахмало-аммиачным.

**Ключевые слова:** микромицеты; питательная среда; возбудители; морфокультуральные особенности; зона ингибирования.

## REZUMAT

În urma studiului proprietăților morfo-culturale și biosintetice ale micromicetelor în funcție de mediul de cultură utilizat, s-a constatat că mediul de cultură afectează semnificativ atât caracteristicile morfo-culturale, cât și pe cele biosintetice ale tulpinilor luate în studiu. Mediul de cultură optim pentru tulpinile studiate este malț-agar. Cultivate pe acest mediu, tulpinile de micromicete au o sensibilitate mai mare la agenții patogeni *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* și *Paenibacillus larvae* în comparație cu mediile de cultură testate Czapek, Sabouraud și amidon-amoniacal.

**Cuvinte-cheie:** micromicete; mediul de cultură; patogeni; particularități morfo-culturale; zonă de inhibiție.

### Introducere

Micromicetele sunt microorganisme ușor adaptabile, deoarece au capacitatea de a forma enzime induse în funcție de natura substratului pe care se află, provocând astfel degradarea substratului precum cel al produselor alimentare, al fibrelor textile, al cauciucului, betonului etc.

Dezvoltarea mucegaiurilor are loc destul de rapid în condiții favorabile astfel încât în interval de 2-3 zile pe mediul nutritiv se formează colonii vizibile diferențiate.

Micromicetele se caracterizează prin micelii septate, prin formarea coloniilor cu o creștere radială limitată sau extinsă și prin culori diferite: alb, galben, brun, verde, portocaliu, albastru, negru cu diferite nuanțe specifice în funcție de gen și specie [1-4].

Microorganismele utilizează diferite substanțe chimice din mediul de cultură, fie ca sursă de energie, fie ca material de construcție pentru creștere și multiplicare, producând modificări ale mediului inițial (dispariția unor substanțe din mediu, apariția unor produși noi, modificarea pH-ului, producere de gaze etc.). Aceste modificări reflectă natura complexului enzimatic și deci in-

direct particularitățile genetice ale microorganismelor respective.

Mediile sintetice au o compoziție chimică definită și nu conțin nici un factor de creștere. Ele prezintă un avantaj major pentru studiile de determinare a capacității și a ratei de metabolizare a unui compus chimic din mediu, deoarece diferitele sale componente, în proporție bine determinată, se pot doza cu precizie după dezvoltarea microorganismelor. Diferența de concentrație semnifică gradul de utilizare a substanței respective. Mediile sintetice oferă posibilitatea reproducerii fidele a unui experiment precum și a comparării obiective a rezultatelor. Complexitatea chimică a mediilor de cultură necesare cultivării diferitelor tipuri de microorganisme este în dependență directă de capacitățile lor biosintetice, care sunt determinate pentru diversitatea mediilor de creștere. Totodată, aceasta este amplificată de specializarea fiziologică extremă a unor microorganisme care necesită prezența în mediu a unui singur compus chimic pe care-l folosește ca sursă de azot sau carbon. De aceea nu există o rețetă de mediu care să răspundă necesităților

nutritive ale tuturor microorganismelor cultivate. Mediile uzuale constituie suportul nutritiv pentru un mare număr de microorganisme. Pentru izolarea și cultivarea micromicetelor sunt utilizate mai multe medii nutritive care permit creșterea majorității fungilor, dintre care: Malț-agar; Czapek; Sabouraud Glucose Agar; amidon amoniacal; mediul Waksman ș.a. [5-10].

Mediul nutritiv are un rol important în creșterea și dezvoltarea microorganismelor și poate modifica proprietățile morfo-culturale și biosintetice ale culturii [11-14].

Reieșind din cele menționate, scopul cercetărilor a constat în studierea proprietăților morfo-culturale și biosintetice în funcție de mediul de cultură.

### **Materiale și metode**

În calitate de obiect de studiu au fost luate 5 tulpini de micromicete din Colecția Națională de Microorganisme Nepatogene (CNMN) ce aparțin genului *Penicillium* și posedă proprietăți antimicrobiene și enzimatic semnificative, astfel prezentând interes biotehnologic.

Acestea sunt tulpinile: *Penicillium* sp. 11; *Penicillium* sp. 19; *Penicillium* sp. 62; *Penicillium* sp. 91 și *Penicillium* sp. 97.

#### **Mediile de cultură luate în studiu:**

Mediul Czapek (g/l): Agar – 20; Extract de malț 6 (Ba) – 1 litru; pH – 5,5-6,0;

Mediul Czapek (g/l): Zaharoză – 30; NaNO<sub>3</sub> – 2,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 1,0; Mg SO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,5; KCl – 0,5; FeSO<sub>4</sub>·x7H<sub>2</sub>O – 0,01; Agar – 20,0; Apă distilată – 1L; pH – 6,5 -7,0;

Mediul Sabouraud g/l: pepton – 10; Glucoză – 40; agar – 20; pH – 5,5-5,8;

Mediul amidon-amoniacal g/l: amidon solubil – 10; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 1,0; MgSO<sub>4</sub> – 1,0; NaCl – 1,0; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 2,0; CaCO<sub>3</sub> – 2,0; Soluție de microelemente – 1ml (Componenta soluției: FeSO<sub>4</sub> – 0,1; MgCl<sub>2</sub> – 0,1; ZnSO<sub>4</sub> – 0,1; H<sub>2</sub>O – 100 ml), pH – 5,6-5,8.

Culturile au fost cultivate timp de 14 zile pe mediile nutritive menționate, fiind examinate în dinamică proprietățile morfo-culturale ale acestora. De asemenea, a fost evaluată activitatea antimicrobiană a culturilor.

În calitate de culturi test pentru testarea proprietăților antimicrobiene au servit fungii *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, agenți patogeni ai aspergilozei la albine și bacteria *Paenibacillus larvae* – agentul patogen al locii americane al albinelor *Apis mellifera*.

#### **Determinarea proprietăților antimicrobiene ale tulpinilor**

Proprietățile antimicrobiene au fost studiate conform metodei difuzimetrice, prin utilizarea blocurilor de geloză [15]. Metoda este bazată pe capacitatea de difuziune a metabolizilor produși de microorganismele studiate în profunzimea gelozei și a acțiunii substanței active din zona de difuzie asupra culturilor fitopatogene.

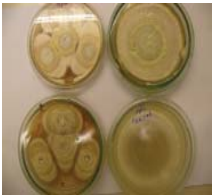


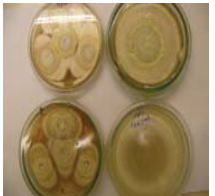








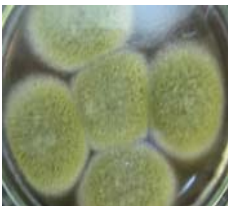


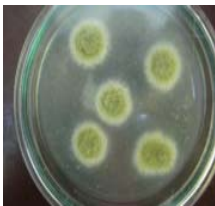


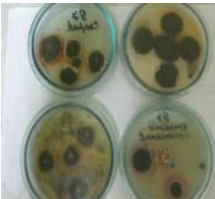
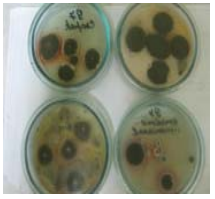
În conformitate cu mărimea zonelor de inhibiție, tulpinile cercetate se împart în sensibile, moderat sensibile și rezistente:

- ø zonei de inhibiție până la 10 mm – sensibilitate scăzută;
- ø zonei de inhibiție de 11-15 mm – sensibilitate medie;
- ø zonei de inhibiție de 15-25mm – sensibile;
- ø zonei de inhibiție mai mare de 25 mm – sensibilitate sporită.

Toate experiențele au fost efectuate în 3 repetări. Calculul indicilor statistici a fost efectuat prin utilizarea programului MS Excel.

#### **Rezultate și discuții**

Tulpinile luate în studiu *Penicillium* sp. 11, *Penicillium* sp. 19, *Penicillium* sp. 62, *Penicillium* sp. 91 și *Penicillium* sp. 97 au fost cultivate pe mediile malț-agar, Czapek, Sabouraud și amidon-amoniacal. Examinarea particularităților morfo-culturale s-a efectuat după 4, 7 și 14 zile de cultivare (Fig.1).

Tulpina	Mediul de cultură			
	maț-agar	Czapek	Sabouraud	amidono-amoniacal
<i>Penicillium</i> sp. 11				
<i>Penicillium</i> sp. 19				
<i>Penicillium</i> sp. 62				
<i>Penicillium</i> sp. 91				
<i>Penicillium</i> sp. 97				

**Figura 1. Aspectul coloniilor tulpinilor cultivate pe mediile: 1 – Czapek; 2 – maț-agar; 3 – Sabouraud; 4 – amidon-amoniacal**

**Sursa:** Elaborată de autori

În urma cercetărilor efectuate, s-a stabilit că tulpinile luate în studiu cresc și se dezvoltă pe toate mediile de cultură testate. Diametrul coloniilor, culoarea miceliului aerian și de substrat, sporularea, forma, marginea coloniilor diferă în funcție de mediul de cultură. Totodată, s-a ob-

servat că mediul optim pentru toate tulpinile de micromicete este mediul maț-agar. Pe acest mediu toți parametrii morfo-culturali au fost mai pronunțați.

Tulpina *Penicillium* sp. 11. Pe mediul maț-agar formează colonii de 4-5 cm, bombate, hifele sunt

împleticite spongios, sporularea – foarte intensă, marginea – netedă. Măciuliile conidiale sunt abundente, conglomerate, galben-verzi. Culoarea coloniilor la început este galben-verde, oranj sau albă, în centru – roză, apoi verde-cărămiziu cu nuanțe de roz, marginea – galbenă sau incoloră (0,5 cm). Reversul este de culoare castanie sau cărămizie. Sporii sunt rotunzi, cu marginea netedă. Miros tipic de mucegai. Pe mediile Czapek, Sabouraud și amidono-amoniacal coloniile sunt mai mici și sporularea este mai slabă, culoarea fiind cărămizie-verzuie.

Tulpina *Penicillium* sp. 19. Pe mediul malț-agar formează colonii cu diametrul de 2,5-3,5 cm, de culoare galbenă, la mijloc – galben-verzuie. Inițial, coloniile sunt de culoare albă, apoi la mijloc apare culoarea galbenă, care treptat devine verzuie, reversul este inițial oranj, dar treptat devine cafeiniu-orangat, au marginea regulată și sunt foarte pufoase și sporulente. Exudația este abundentă, culoarea picăturilor – oranj. Pe mediile Czapek; Sabouraud și amidono-amoniacal formează colonii de 1,5-2,5 cm. Inițial, culoarea acestora este albă, apoi – galbenă cu nuanțe verzui, forma – regulată, sunt pufoase, sporulente.

Tulpina *Penicillium* sp. 62. Crește bine pe toate cele 4 medii testate. Diametrul coloniilor pe mediul malț-agar după 14 zile de cultivare este de 4 cm, pe mediul Czapek – de 3 cm, iar pe mediile Sabouraud și amidono-amoniacal – de 2,5 cm. Culoarea coloniilor – verde cu o bordură albă. Sporularea – mai intensă pe mediile malț-agar și Czapek comparativ cu celelalte medii.

Tulpina *Penicillium* sp. 91. Crește și se dez-

voltă bine pe toate mediile incluse în studiu. Mediul optim, conform diametrului coloniilor (5,5-6,0 cm) și gradului de sporulare (foarte sporulente), este mediul malț-agar. Pe acest mediu tulpina se dezvoltă mai repede și mai bine, pe când pe mediile Czapek, Sabouraud și amidon-amoniacal creșterea și sporularea sunt mai lente.

Tulpina *Penicillium* sp. 97. Crește și se dezvoltă bine pe toate cele 4 medii de cultură testate. Mediile malț-agar și Czapek sunt însă mai prielnice pentru cultivarea acesteia, deoarece creșterea și sporularea este mai intensă. Pe aceste medii a fost înregistrat și diametrul maximal al coloniilor de 3,5-4,0 cm, precum și o sporulare mai intensă. Pe mediul malț-agar tulpina colorează mediul de substrat în roz.

Toate tulpinile de micromicete luate în studiu au prezentat o creștere mai intensă pe mediile de cultură malț-agar și Czapek. Pentru a afla dacă la tulpinile menționate apar modificări ale proprietăților biosintetice în funcție de mediul de cultură, a fost studiată activitatea antimicrobiană a tulpinilor crescute pe mediul malț-agar și Czapek față de unii fitopatogeni. Astfel, din rezultatele prezentate în Fig. 2 și Fig. 3, putem constata că tulpinile *Penicillium* sp. 62 și *Penicillium* sp. 97 cultivate pe mediul malț-agar manifestă o sensibilitate mai înaltă față de patogenii *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* și *Paenibacillus larvae* decât în cazul cultivării pe mediul Czapek. Diametrul zonelor de inhibiție a patogenilor este mai mare în cazul cultivării tulpinilor pe mediul malț-agar comparativ cu mediul Czapek.

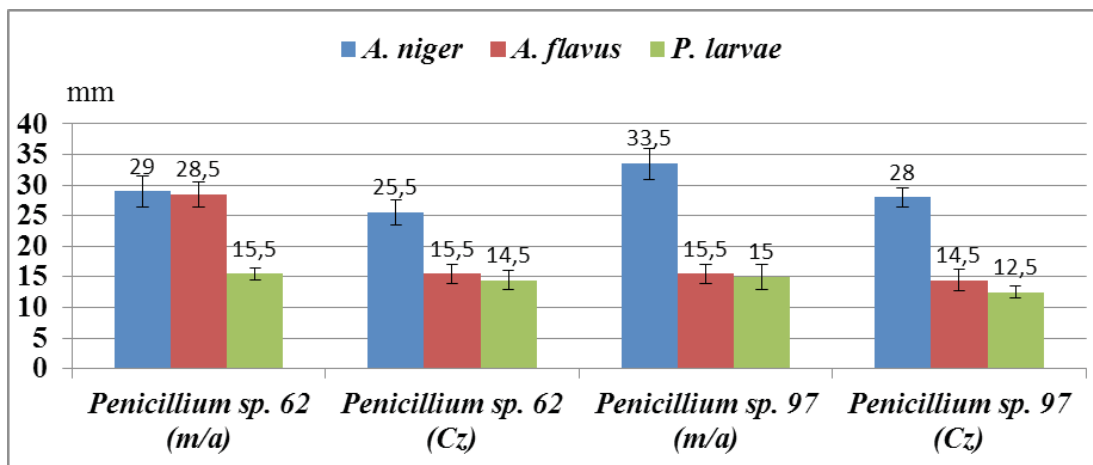


Figura 2. Diametrul zonei de inhibiție a fitopatogenilor în funcție de mediul de cultură a micromicetelor (mm)

Sursa: Elaborată de autori



1



2

Figura 3. Acțiunea exometaboliților tulpinilor de micromicete: 1 – *Penicillium* sp. 62; 2 – *Penicillium* sp. 97 asupra patogenului *Aspergillus flavus* în funcție de mediul de cultivare (dreapta – malț-agar, stânga – Czapek)

Sursa: Elaborată de autori

Tulpina *Penicillium* sp. 91. a manifestat sensibilitate numai față de patogenul *Paenibacillus larvae*, agentul patogen al loicii americane. În cazul tulpinii *Penicillium* sp. 91 s-a observat aceeași legitate. Sensibilitatea acestei tulpini,

cultivată pe mediul malț-agar, față de patogenul *Paenibacillus larvae* a fost mai înaltă comparativ cu sensibilitatea înregistrată în cazul cultivării tulpinii pe restul mediilor de cultură utilizate (Fig. 4).

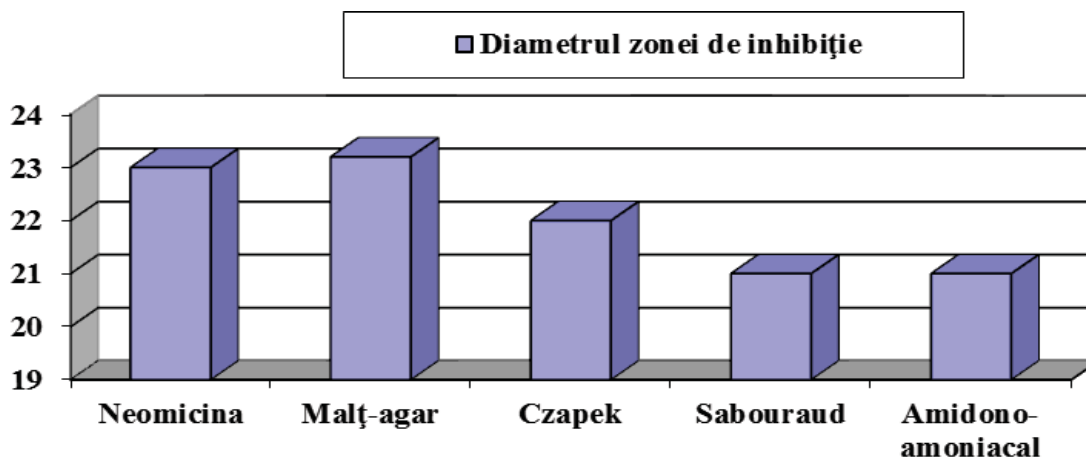


Figura 4. Activitatea antibacteriană a tulpinii *Penicillium* sp. 91 în funcție de mediul de cultură

Sursa: Elaborată de autori

Diametrul maximal al zonei de inhibiție a patogenului testat a fost înregistrat la utilizarea tulpinii cultivată pe mediul malț-agar și constituie 23,5 mm față de 23 mm ai diametrului obținut de către antibioticul neomicina ce a servit ca martor. Diametrul maximal al zonei de inhibiție a patogenului la testarea tulpinii *Penicillium* sp. 91 cultivată pe mediul Czapek constituie 22 mm și nu diferă substanțial de cel al martorului. Cultivarea tulpinii pe mediile Sabouraud sau amidon-amoniacal a demonstrat o activitate antibacteriană mai slabă, zona de inhibiție a patogenului *Paenibacillus larvae* fiind de 21 mm față de 23 mm ai zonei de inhibiție obținută în varianta martor. Astfel, putem constata că mediul optim pentru cultivarea tulpinii *Penicillium* sp. 91 în scopul obținerii activității antibacteriene maxime este mediul malț-agar.

Tulpina *Penicillium* sp. 11 a manifestat sensibilitate numai față de patogenul *Aspergillus flavus*, cu zona de inhibiție de 15,5 mm în cazul cultivării pe mediul malț-agar și cu zona de inhibiție de 14,0 mm în cazul cultivării pe mediul Czapek.

Tulpina *Penicillium* sp. 19, indiferent de mediul de cultură utilizat, nu a manifestat sensibilitate față de patogenii testați.

### Concluzii

1) S-a demonstrat că particularitățile morfoculturale ale micromicetelor din genul *Penicillium* diferă în funcție de mediul de cultură utilizat.

2) Mediul de cultură optim pentru tulpinile de micromicete din genul *Penicillium* este malț-agar. La utilizarea mediului de cultură malț-agar micromicetele studiate manifestă o sensibilitate mai înaltă față de patogeni comparativ cu alte medii de cultură testate.

### REFERINȚE

- LICKER, M., HOGEA, E., CRĂCIUNESCU, M., HORHAT, F. ș.a. Microbiologie generală. Îndrumar de lucrări practice. Timișoara 2019, 96 p. ISBN 978-606-8456-43-0
- PRICOP, F., POPESCU, A., SCARLAT, R. Impactul tehnologic de finisare textilă ecologică asupra calității apelor reziduale. În: Buletinul AGIR, Supliment, 2012, nr.2, p.121-127. Online: ISSN 2247-3548
- ГАРИБОВА, Л. В., ЛЕКОМЦЕВА, С. Н. Основы микологии. Морфология и систематика грибов и грибоподобных организмов. Москва, 2005, 221 с. ISBN: 5-87317-265-X
- МИХАЙЛОВА, Р. В. Мацерирующие ферменты мицелиальных грибов в биотехнологии.

Минск: Белорусская наука, 2007. 408 с. ISBN 978-985-08-0853-0

5. EIVSON, S. E. F., FAZIO, G., CHAPPELL, P., FOLEY, K., JENSEN, A. B. and HUGHES, W. O. H. Innate expression of antimicrobial peptides does not explain genotypic diversity in resistance to fungal brood parasites in the honey bee. *Apidologie* 47, 2016, p. 206–215. doi: 10.1007/s13592-015-0388-4

6. Thomas J. Walsh M.D., Randall T. Hayden M.D. Larone's medically important fungi: A guide to identification. 2018, Online ISBN:9781683670537. DOI:10.1128/9781555819880

7. MacFaddin, J. F. Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medical bacteria. vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore, 1985. ISBN: 0-683-05316-7

8. SÎRBU, T. Optimizarea mediului nutritiv pentru cultivarea tulpinii *Penicillium funiculosum* – sursă de catalază. *STUDIA UNIVERSITATIS MOLDAVIAE*, 2018, nr.1(111) Seria „Științe reale și ale naturii”, p. 86-91. ISSN 1814-3237

9. SUMMERBELL, R. C. Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton, and agents of superficial mycoses. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. Tenover H.(ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. 2003. American Society for Microbiology, Washington, D.C. DOI: 10.1128/9781555817381.ch123

10. ZARNEA, G., MIHĂESCU, Gr. Principii și tehnici de microbiologie generală. București. 1992. 307 p.

11. АХАПКИНА, А. Г., БЛИНКОВА, Л. П. Питательные среды как искусственная среда роста и развития микроорганизмов. *Микробиология*. 2001, № 6, с. 99-108 ISSN 0026-3656

12. БЛИНКОВА, Л. П., ГОРОБЕЦ, О. Б. Оценка качества микологических и бактериологических питательных сред на основе принципа конгруэнтности. В кн.: Успехи медицинской микологии. Т. 10. Под ред. Сергеева Ю.В. М.: Национальная академия микологии, 2007. С. 78-79

13. MUTHU, N. and SHANMUGASUNDARAM, K. Effect of five diferent culture media on mycelial growth of *Agrocybe aegerita*. *IJPSR*, Vol. 6(12): 2015;5193-5197. E-ISSN: 0975-8232; P-ISSN: 2320-5148

14. KIEPŚ, J., DEMBCZYŃSKI, R. Current Trends in the Production of Probiotic Formulations. *Foods* 2022, 11, 2330. <https://doi.org/10.3390/foods11152330>

15. ЕГОПОВ, Н. С. 2004. Основы учения об антибиотиках. М. Изд-во МГУ, Наука, 528 с. ISBN 5-02-033595-9.