



MD 4334 C1 2015.10.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4334** (13) **C1**
(51) Int.Cl: *A01H 13/00* (2006.01)
C12N 1/12 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. depozit: a 2014 0012 (22) Data depozit: 2014.02.03	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2015.03.31, BOPI nr. 3/2015
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	
(72) Inventatori: TROFIM Alina, MD; ȘALARU Vasile, MD; ZOSIM Liliana, MD; ȘALARU Victor, MD	
(73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

(54) Tulpina microalgei cianofite *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kutz -
sursă de glucide

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la biotehnologie și poate fi utilizată în industria microbiologică pentru obținerea glucidelor, care pot fi utilizate ca sursă nutritivă, în cosmetologie și în industria farmaceutică pentru elaborarea preparatelor medicamentoase, în zootehnie și fitotehnie în calitate de stimulatori biologici pentru creșterea animalelor și plantelor.

2
Tulpina de microalgă cianofită *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kutz. este depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene cu numărul CNMN-CB-15 și poate fi utilizată în calitate de sursă de glucide.
Revendicări: 1

MD 4334 C1 2015.10.31

(54) Strain of blue-green microalga *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kutz - source of glucides

(57) Abstract:

1

The invention relates to biotechnology and can be used in the microbiological industry for the production of glucides that can be used as a nutrient source, in cosmetology and in the pharmaceutical industry for the production of drugs, in the livestock farming and plant growing as biological stimulants for animals and plants.

2

The strain of blue-green microalga *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kutz. is deposited in the National Collection of Nonpathogenic Microorganisms under the number CNMN-CB-15 and can be used as a source of glucides.

Claims: 1

(54) Штамм сине-зелёной микроводоросли *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kutz - источник углеводов

(57) Реферат:

1

Изобретение относится к биотехнологии и может быть использовано в микробиологической промышленности для получения углеводов, которые могут быть использованы в качестве питательного источника, в косметологии и в фармацевтической промышленности для изготовления лекарственных препаратов, в животноводстве и растениеводстве в

2

качестве биологических стимуляторов для животных и растений.

Штамм сине-зелёной микроводоросли *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kutz., депонирован в Национальной Коллекции Непатогенных Микроорганизмов под номером CNMN-CB-15 и может быть использован в качестве источника углеводов.

П. формулы: 1

Descriere:

Invenția se referă la biotehnologie și poate fi utilizată în industria microbiologică pentru obținerea glucidelor, care pot fi utilizate ca sursă nutritivă, în cosmetologie și în industria farmaceutică pentru elaborarea preparatelor medicamentoase, în zootehnie și fitotehnie în calitate de stimulatori biologici pentru creșterea animalelor și plantelor.

Este cunoscută utilizarea tulpinii de algă *Scenedesmus obliquus* în calitate de sursă de glucide [1].

Dezavantajul acestei tulpini este că ea posedă o cantitate insuficientă de glucide (11,0...14,0% BAU).

Cea mai apropiată după esența tehnică și rezultatul obținut este tulpina de algă *Nodularia* sp. [2].

Dezavantajul acestei tulpini constă în nivelul scăzut de glucide (19,0...20,6% BAU).

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în obținerea unei tulpini noi de microalgă cianofită *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kutz., care ar asigura un conținut mai sporit de glucide.

Esența invenției constă în aceea că se propune o tulpină nouă de microalgă cianofită *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kutz., depozitată în Colecția Națională de Microorganisme a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM sub numărul CNMN-CB-15, în calitate de sursă de glucide.

Rezultatul tehnic al invenției constă în faptul că biomasa tulpinii propuse de *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kutz. are un conținut sporit de glucide (28,84...30,57% BAU), față de cea mai apropiată soluție (19,0...20,6% BAU).

Rezultatul tehnic obținut se datorează particularităților biochimice ale tulpinii, în special sintezei unor substanțe chimice de o valoare deosebită (glucide 28,84...30,57% BAU), fapt ce demonstrează particularitatea distinctă a cianofitelor de a sintetiza biomasă cu un conținut chimic valoros.

Exemplu de realizare a invenției

Tulpina propusă *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kutz. CNMN-CB-15 a fost obținută în anul 2011 din mostre de sol de pe camp de porumb (or. Briceni, Republica Moldova) prin metoda însămânțării repetate pe medii lichide și agarizate.

Pentru creșterea și dezvoltarea componentă chimică: K_2HPO_4 - 0,2 g/l; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,2 g/l; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ - urme; $FeCl_3$ - urme. Cultivarea se efectuează cu menținerea următorilor parametri: temperatura de +23...+ 25°C, iluminarea de 1000...3000 luși. Durata cultivării este de 12...15 zile.

Tulpina se caracterizează printr-o sinteză sporită de glucide, cantitatea cărora este de 28,84%.

Caracterele morfo-culturale ale tulpinii: tulpina are trihomi liberi sau uniți în pâlcuri de regulă lineare, uneori încovoiați, de culoare albăstruie-verzuie. Celulele vegetative au formă cilindrică sau pătrată, cu lungimea de 4,0...5,0 μ și lățimea de 2,5...4,2 μ . Heterociștii apicali sunt ușor alungiți, de formă conică cu lățimea de 3,0...6,0 μ și lungimea de 4,0...12,0 μ . Trihomii conțin câte un spor situat între heterocistul bazal și celulele vegetative, au forma alungit-elipsoidală cu capetele aplatizate, culoarea cafenie-gălbuie, lungimea medie de 12,0...20,0 μ și lățimea de 7,3...12,2 μ .

Caracterele fiziologo-biochimice ale tulpinii algei *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kutz. CNMN-CB-15. Crește bine pe mediul mineral Drew cu următoarea componentă chimică: K_2HPO_4 - 0,2 g/l; $Mg SO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,2 g/l; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ - urme; $FeCl_3$ - urme.

Substanțele biologic active ce fac parte din componenta tulpinii date sunt: proteine 30,52...38,40% BAU; lipide 19,34...20,90% BAU; glucide 28,84...30,57% BAU.

Cultivarea se efectuează cu menținerea următorilor parametri: temperatura de +23...+25°C, iluminarea de 1000...3000 lx. Durata cultivării este de 12 zile. Tulpina *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kutz. se păstrează pe mediul nutritiv Drew.

Termenul de păstrare nu este limitat, însă necesită reînsămânțarea o dată la 10...12 zile.

5 Gradul de puritate al tulpinii: tulpina *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kutz. CNMN-CB-15 este selectată în cultură algologic pură. Pentru menținerea purității, cultura se recultivă pe medii agarizate în cutii Petri sau eprubete la aceeași temperatură și iluminare. Pe medii agarizate, cât și pe cele lichide, reînsămânțarea tulpinii se recomandă de două ori pe lună. Când biomasa atinge cota de 1,0 g/l o parte din ea se înlătură prin filtrare și se adaugă mediu nutritiv nou, readucând suspensia la concentrația inițială.

10 Intr-un vas cu volumul de 250 ml cu mediul nutritiv lichid Drew, se introduce biomasa algologic pură de *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kutz. CNMN-CB-15, în cantitate de 0,4 g/l, după 14 zile de cultivare se determină din nou biomasa și conținutul de substanțe biologice active, în vederea utilizării biomasei algale în calitate de sursă de substanțe biologice active.

15

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Safaa M. Ezzat and Heba A. El-Bialy. Biological removal of some nitrogenous compounds in industrial wastewater using the green microalga *Scenedesmus obliquus*. Journal of Applied Sciences Research, 2011, 7(12), p. 1800-1811
2. Pushparaj B., Pelosi E., Carozzi P., Torzillo G. Yield and biochemical composition of a marine cyanobacterium (*Nodularia* sp.) in outdoor culture. Aquatic Microbial Ecology, 1995, vol. 9, p.13-16

(57) Revendicări:

Tulpina microalgei cianofite *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kutz CNMN-CB-15 în calitate de sursă de glucide.

Șef adjunct Direcție Brevete :

IUSTIN Viorel

Șef Secție Examinare:

GROSU Petru

Examinator:

LUPAȘCU Lucian

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: a 2014 0012

(22) Data depozit: 2014.02.03

(71) Solicitant: **UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD**(54) **Titlul: Tulpina microalgei cianofite *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kutz - sursă de glucide**

II. Clasificarea obiectului invenției:

(51) **Int.Cl: A01H 13/00** (2006.01), **C12N 1/12** (2006.01)

III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)

MD - Intern « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stanga/dreapta): “*Cylindrospermum licheniforme*”, “*Cylindrospermum licheniforme* glucide”**Int.Cl: A01H 13/00** (2006.01), **C12N 1/12** (2006.01)**"Worldwide" (Espacenet):** “*Cylindrospermum licheniforme*”, “*Cylindrospermum licheniforme* glucid”**Int.Cl: A01H 13/00** (2006.01), **C12N 1/12** (2006.01)**EA, CIS (Eapatis):** “*Cylindrospermum licheniforme*”, “*Cylindrospermum licheniforme* углеводы”**Int.Cl: A01H 13/00** (2006.01), **C12N 1/12** (2006.01)**SU (nonpublic):** “*Cylindrospermum licheniforme*”, “*Cylindrospermum licheniforme* углеводы”**Int.Cl: A01H 13/00** (2006.01), **C12N 1/12** (2006.01)

IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate

Dobrojan, S.; Dobrojan, G.; Șalaru, V.V.; Șalaru, V.M.; Negara, C.; Trofim, A. Fixarea biologică a azotului în nisip la administrarea algelor *Anabaenopsis* sp. și *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kütz f. *alatosporum* Kondrat. în diferite doze. In: Buletinul Științific, Revistă de Etnografie, Științele Naturii și Muzeologie, 2011, p. 111-116 ISSN 1857-0054.

Dobrojan, S.; Stratulat, I.; Șalaru, V.; Trofim, A.; Dobrojan, G. The influence of light on morphological changes of blue-green algae *Nostoc gelatinosum* (Schousb) Elenk and *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kutz. (Cyanophyta). In: V International conference „Actual problems in modern phycology”, 2014, p. 45-49. ISBN 978-9975-71-577-5.

Trofim Alina, Șalaru Vasile, Dobrojan Sergiu. Rolul algelor *Cylindrospermum licheniforme* f. *Alatosporum* (kondrat) și *anabaenopsis* sp. In procesul de epurare a apelor reziduale de la complexele zootehnice conferința științifică națională cu participare internațională consacrată celei de-a 50 aniversări de la fondarea secției de microbiologie. Probleme actuale ale microbiologiei și biotehnologiei, Chișinău, Republica Moldova, 5-6 octombrie 2009, p. 178.

Șalaru, V.V.; Șalaru, V.M. Rolul algelor în ecosistemele naturale și în viața omului. În: Revista Botanica. Ch: Tipografia „Știința”, 2010, ISSN 1857-095X.

Dobrojan, S.; Șalaru, V. V.; Șalaru, V. M.; Negara, C.; Dobrojan, G.; Trofim, A. Alga cianofită *Anabaenopsis* sp. – sursă de îmbogățire a solului în azot. În: Materialele simpozionului științific internațional Conservarea diversității plantelor consacrat aniversării a 60-a de la fondarea Grădinii Botanice (Institut) a AȘM. Ch.: ”Tipografia Reclama” SA, 2010,. p.179 – 183. ISBN 978-9975-105-42-2.

Dobrojan, S.; Dobrojan, G.; Șalaru, V.V.; Șalaru, V.M.; Negara, C.; Trofim, A. Fixarea biologică a azotului în nisip la administrarea algelor *Anabaenopsis* sp. și *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kütz f. *alatosporum* Kondrat. în diferite doze. In: Buletinul Științific, Revistă de Etnografie, Științele Naturii și Muzeologie, 2011, p. 111-116 ISSN 1857-0054

Usturoi, R.; Șalaru, V.; Șalaru, V.M. Particularitățile morfologice ale tulpinii *Nostoc flagelliforme* (Berk et. Curt) Elenk. In: Materialele conf. șt. int. ”Creșterea impactului cercetării și dezvoltarea capacității de inovare”- 65 ani USM., Ch: CEP USM., 2011, p.351. ISBN 978-9975-71-138-8

Cardemil L., Wolk C.P. The polysaccharides from the envelopes of heterocysts and spores of the blue-green algae *Anabaena variabilis* and *Cylindrospermum licheniforme*. J. Phycol., 1981,17, p. 234–240

Cardemil L, Wolk C.P. The polysaccharides from heterocyst and spore envelopes of a blue-green alga. Structure of the basic repeating unit. J. Biol. Chem., 1979, 254, p. 736–741

Cardemil L., Wolk C. P. Polysaccharides from the envelopes of heterocysts and spores of the blue-green algae *Anabaena variabilis* and *Cylindrospermum licheniforme*. Journal of Phycology, 1981, Vol. 17, Issue 3, p. 234–240

http://www.imb.asm.md/uploads/File/IMB_conf_adaos.pdf

http://www.cnaa.md/files/theses/2013/23339/alina_trofim_abstract.pdf

http://www.cnaa.md/files/theses/2014/26992/natalia_dontu_thesis.pdf

<http://botanica.uaic.ro/docs/Journal%20of%20Plant%20Development2008.pdf>

http://www.academia.edu/5852192/Lista_publicatiilor

<https://books.google.md/books?id=zbX39nuSOMUC&pg=PA366&lpg=PA366&dq=Cylindrospermum+licheniforme+polysaccharides&source>

http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=30116

<http://mic.sgmjournals.org/content/128/5/917.full.pdf>

<http://www.asm.md/galerie/file/Rodica/Membrii/Raport-Salaru-Vasile-2010.pdf>

V. Documente considerate a fi relevante

Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	MD 275 G2 1996.01.10	1
A	MD 286 G2 1996.06.10	1
A	MD 1352 G2 2000.10.31	1
A	MD 4104 C1 2011.10.31	1
A	MD 4113 C1 2011.12.31	1
A	MD 4122 C1 2012.02.29	1
A	US 2013190269 A1 2013.07.25	1
A	CN 102417548 A 2012.04.18	1
A	WO 2007136428 A2 2007.11.29	1
A	US 2007191303 A1 2007.08.16	1
A, D	Safaa M. Ezzat and Heba A. El-Bialy. Biological removal of some nitrogenous compounds in	1

	industrial wastewater using the green microalga <i>Scenedesmus obliquus</i> . Journal of Applied Sciences Research, 2011, 7(12), p. 1800-1811	
A, D, C	Benjamin Pushparaj, Elio Pelosi, Pietro Carlozzi, Giuseppe Torzillo. Yield and biochemical composition of a marine cyanobacterium (<i>Nodularia</i> sp.) in outdoor culture. Aquatic Microbial Ecology, 1995, vol. 9, p.13-16	1
* categoriile speciale ale documentelor citate:		
A – document care definește stadiul anterior general	T – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria pe care se bazează invenția	
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată	
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	D – document menționat în descrierea cererii de brevet	
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	C – document considerat ca cea mai apropiată soluție	
	& – document, care face parte din aceeași familie de brevete	
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri	
Data finalizării documentării		
Examinator		LUPAȘCU Lucian