

ANALYSE DES PROTÉINES SOLUBLES SYNTHÉTISENT PAR DES CHAMPIGNONS CELLULOLYTIQUES *CHAETOMIUM GLOBOSUM* ET *ALTERNARIA ALTERNATA* CULTIVÉNT DANS LES MILIEUX AVEC DES SCIURES DE HÊTRE ET DE PIN

LĂCRĂMIOARA OPRICĂ^{1*}, ALEXANDRU MANOLIU², ANCA HUMĂ¹,
EUGEN UNGUREANU¹

Clef mots: Champignons cellulolytiques, sciures de hêtre et de pin, protéines solubles

Résumé: L'ouvrage présente l'influence de différentes concentrations des sciures de hêtre et de pin sur la synthèse des protéines solubles par les espèces *Chaetomium globosum* et *Alternaria alternata*. Les deux espèces étudiées ont été cultivées sur le milieu liquide Czapek-Dox. La sucrose étant l'unique source de carbone du milieu et a été remplacée avec différentes quantités des sciures de hêtre et de pin (2g, 4g). La quantité des protéines solubles a été déterminée dans le mycélium et liquide culture, après 7 et 11 jours de l'inoculation. Les résultats ont démontré que la biosynthèse des protéines solubles des espèces cellulolytiques cultivées sur les milieux avec des sciures de hêtre et de pin a été influencée par le type et la concentration de substrat ainsi que par l'âge de la culture.

INTRODUCTION

La cellulose est le polysaccharide le plus abondant présent dans la biomasse végétale. Sa dégradation par les cellulases constitue l'un des processus majeurs du cycle du carbone dans la biosphère. La cellulose représente également une source potentiellement importante de solvants et carburants (acétone, butanol, éthanol, acide acétique etc.) pouvant être obtenue par fermentation à partir du glucose résultant de son hydrolyse. (Beguin P., 1990)

Le développement important des nouvelles directions de la biotechnologie détermine une grande préoccupation à l'égard de la récupération et l'introduction dans le circuit économique des matériels végétaux sans valeur, sous la forme de sous-produits utiles du point de vue économique. L'étude des processus de dégradation microbienne des matériels cellulolytiques sans valeur, avec l'activité enzymatique de champignons, représente un domaine vaste de recherche scientifique.

Nos recherches ont été effectuées initialement avec l'espèce *Chaetomium globosum*, pour étudier l'influence des certains facteurs (sources de carbone, sources de nitrogène, micro-éléments, liquides magnétiques) sur la biosynthèse des protéines solubles (Antohe et Manoliu, 1996; Manoliu et Antohe, 1997; Oprică et al., 1998; Manoliu et al., 2001).

S.S.Kahlon et K.L.Kalra, 1986, ont étudié la quantité de protéines à l'espèce *Chaetomium globosum*, un champignon nontoxique qui est considéré une source de protéines.

Dans cette œuvre nous présentons les résultats concernant la quantité des protéines solubles synthétisées par des champignons *Chaetomium globosum* et *Alternaria alternata* cultivés dans les milieux avec des sciures de hêtre et pin.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les recherches ont été effectuées avec deux les espèces cellulolytiques *Chaetomium globosum* et *Alternaria alternata*. Ces espèces ont été cultivées sur le milieu solide Haynes. Après 7 jours, de ces cultures nous avons découpé des disques (de 0,8 cm diamètre) qui ont été introduits dans le milieu Czapek-Dox.

Dans le milieu de culture des deux l'espèce la source de carbone (sucrose) a été remplacée avec concentrations différentes des sciures de hêtre et de pin, résultant les suivantes variantes: V1=Cz-D+2g sciures de hêtre, V2=Cz-D+4g sciures de hêtre, V4=Cz-D+2g sciures de pin, V5=Cz-D+4g sciures de pin; de plus ont été utilisées deux variantes qui ont contenu seulement l'eau distillée et sciures de hêtre et de pin, V3= l'eau distillée+4g sciures de hêtre, V6=l'eau distillée+4g sciures de pin.

Nous avons suivi l'influence de différentes concentrations des sciures de hêtre et de pin sur la synthèse des protéines solubles dans le mycélium et le liquide de culture de ces champignons.

L'extraction des protéines solubles a été effectuée par triturer le mycélium avec verre broyé en présence de tampon Tris-HCl 50 mM, pH-8 contenant dithiothreitol, acide ascorbique 10 mM, cystéine 6 mM, EDTA 1 mM, Triton x 100 0,1 %. (Dupré, 1991, Hilbert, 1988). Le dosage de la quantité de protéines solubles a été réalisé d'après la technique de Bradford, 1976, qui est très sensible, effectuant trois répétitions pour chaque variante.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Il y a beaucoup des microorganismes qui sont capables de se développer sur les matériaux cellulolytiques et qui les peuvent convertir aux produits utiles. Les déchets qui proviennent de l'industrie forestière, sans valeur économique, représentent une importante source de cellulose.

Dans la littérature il y a des données concernant l'influence des sources de carbone naturel (son de blé et maïs, sciure de hêtre) dans la concentration 1-8g% sur la biosynthèse des cellulases à deux les espèces *Aspergillus*, *A. niger* et *A. fumigatus*. Une activité endoglucanasique maximale a été observée à l'espèce *A. fumigatus* dans le milieu avec sciures de hêtre 4g%, tant que pour à l'espèce *A. niger* une concentration 2g% (Enache et Zarnea, 1986).

Les résultats qui montrent l'influence des sciures de hêtre et de pin sur la biosynthèse des protéines solubles à l'espèce *Chaetomium globosum* sont présentés dans la figure 1 (pour le mycélium) et la figure 2 (pour le liquide de culture).

D'après 7 jours de l'inoculation, la plus grande quantité des protéines solubles de mycélium a été mise en évidence à V3 – 17,38 mg% et la plus petite à V4 – 5,33 mg%. Les autres variantes présentent les valeurs suivantes: V2 – 14,59 mg%, V6 – 14,08 mg%, V1 – 11,04 mg%, V5 – 9,77 mg%.

D'après 11 jours de l'inoculation, la biosynthèse des protéines n'a pas été influencée uniformément. On a observé que la plus grande quantité des protéines solubles a été synthétisée aux variantes V2 et V4 – 17,76 mg%. Les autres variantes ont les valeurs suivantes: V6 – 15,73 mg%, V1 – 15,12 mg%, V3 – 15,10 mg% et V5 – 13,95 mg%. Se remarque le fait qu'aux variantes majorité, la quantité des protéines solubles ait grandi à 11 jours, exception a seulement fait la variante V3, où la quantité a diminué.

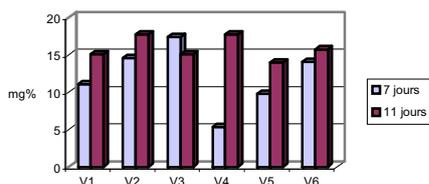


Figure 1. L'influence des quantités des sciures de hêtre et de pin sur la biosynthèse des protéines solubles dans le mycélium de *Chaetomium globosum*

Beaucoup des auteurs soutiennent que la valeur de 4g% représente une concentration optimale des déchets cellulolytiques utilisés dans cultures submergées pour la production des cellulases (Enache, Zarnea, 1986).

En liquide de culture, à 7 jours après inoculation, la plus grande quantité des protéines solubles a été mise en évidence à V4 – 0,001mg/ml, mais la plus petite à V2 – 0,0004 mg/ml, entre les deux valeurs il y a les variantes: V3 – 0,0008 mg/ml, V6 – 0,0007 mg/ml, V1 – 0,00076 mg/ml, V5 – 0,0006 mg/ml.

À 11 jours après inoculation, la plus grande quantité des protéines a été influencée, la variante V2 – 0,0015 mg/ml, les autres variantes ayant les suivantes valeurs: V3 – 0,0014 mg/ml, V1– 0,0011 mg/ml, V4 – 0,001 mg/ml, V6– 0,0007 mg/ml et V5 – 0,0006 mg/ml.

Se remarque une augmentation de quantités des protéines aux variantes V1, V2, V3, de 0,00076 mg/ml à 0,0011 mg/ml, de 0,00040 mg/ml à 0,0015 mg/ml et respectif de 0,0008 mg/ml à 0,0014 mg/ml. Aux autres variantes s’observe le fait que ne s’ai pas changé la quantité des protéines synthétisent par rapport aux première 7 jours.

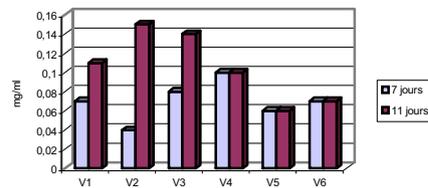


Figure 2. L’influence des quantités des sciures de hêtre et de pin sur la synthèse des protéines solubles libérées dans le liquide de culture de *Chaetomium globosum*

Les résultats regardant l’influence des sciures de hêtre et pin sur la biosynthèse des protéines solubles dans le mycélium de l’*Alternaria alternata* ont présenté dans la figure 3.

La plus grande valeur des protéines solubles dans le mycélium, enregistré à 7 jours après inoculation, a été obtenue à la variante V2 – 37,81 mg%, mais la plus petite valeur à la variante V5 – 19,79 mg%.

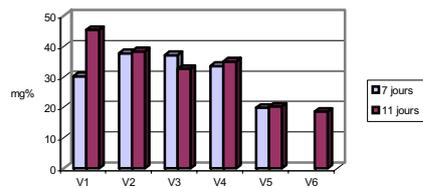


Figura 3. L’influence des quantités des sciures de hêtre et de pin sur la biosynthèse des protéines solubles dans le mycélium de *Alternaria alternata*

La quantité des protéines solubles a grandi à 11 jours après inoculation, à la majorité des variantes de milieu. De cette manière, à V1 la quantité des protéines a augmenté de 30,26 mg% à 45,38 mg%, à V2 de 37,81 mg% à 38,45 mg%, à V4 de 33,62 mg% à 35,09 mg%, à V5 de 19,79 mg% à 20,32 mg%; exception a fait la variante V3 où la quantité de protéines a diminué de 37,18 mg% à 32,61 mg%.

Les résultats regardant l'influence de sciures de hêtre et pin sur la biosynthèse des protéines solubles dans le liquide de culture de *Alternaria alternata* ont présenté dans la figure 4.

A 7 jours de l'inoculation on constate que la plus grande quantité synthétiser a été observée à la variante V5 – 0,18 mg/ml, mais la plus petite valeur a été à V1 – 0,01 mg/ml. Les autres variantes ont les valeurs suivantes: V6 – 0,17 mg/ml, V4 – 0,11 mg/ml, V3 – 0,06 mg/ml, V2 – 0,04 mg/ml.

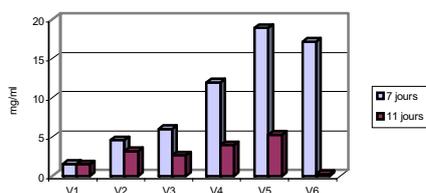


Figura 4. L'influence des quantités des sciures de hêtre et de pin sur la synthèse des protéines solubles libérées dans le liquide de culture de *Alternaria alternata*

D'après 11 jours après inoculation, la quantité des protéines solubles a diminué aux toutes les variantes; de cette manière, à la variante V1 de 0,0157 mg/ml à 0,0152 mg/ml, à V2 de 0,0459 mg/ml à 0,0319 mg/ml, à V3 de 0,0606 mg/ml à 0,0266 mg/ml, à V4 de 0,1197 mg/ml à 0,0395 mg/ml, à V5 de 0,1890 mg/ml à 0,0527 mg/ml, à V6 de 0,1715 mg/ml à 0,0025 mg/ml

CONCLUSIONS

La quantité des protéines solubles aux espèces *Chaetomium globosum* et *Alternaria alternata* a grandi, en général, avec l'augmentation de sciures introduirent dans le milieu de culture.

Aux tous les deux espèces cellulolytiques, le contenu protéinique du mycélium est plus riche que celle du liquide de culture.

La plus grande quantité des protéines solubles du mycélium, à 7 jours après inoculation a été observé à la variante qui contenait 4g sciures de hêtre et l'eau distillée pour l'espèce *Chaetomium globosum*. A l'espèce *Alternaria alternata* la plus grande quantité des protéines solubles du mycélium a été observé à la variante qui contenait 2g sciures de pin.

A 11 jours après inoculation, pour tous les deux les espèces, la variante qui contienne 4g sciures de hêtre a enregistré, en mycélium, la plus grande valeur de la quantité de protéine.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Antohe Lăcrămioara, Manoliu Al., 1996 - Studii și cercetări de biologie, seria biologie vegetală, nr. 2, tomul 48, p. 139-146.

Beguín P., 1990 – Ann. Rev. Microbiol, 44: 219-248.

Bradford M.M., 1976 - Analytical Biochem. 72, p. 248-254.

Dupré C., Chevalier G., 1991 - Cryptogamie, Mycologie, 12, p. 243-250.

Enache Elena, Zarnea G., 1986 - Lucrările celui de al V-lea Simpozion de Microbiologie Industrială, p.203-210.

Hilbert J., Martin H.F., 1988 - Cryptogamie, Mycologie, 9, p. 243-250.

Kahlon S.S., Kalra K.L., 1986 - Agricultural Waste, vol.18, Issue 3, p. 207-213.

Manoliu Al., Antohe Lăcrămioara, 1997 - Analele Științifice, Vol. 40, seria Horticultură, Univ. Agronomică și Medicină Veterinară, p. 196-200.

Manoliu Al., Olteanu Zenovia, Oprică Lăcrămioara, Creangă Dorina, 2001 - 9 th International Conference on Magnetic Fluids, p. 64-65.

Oprică Antohe Lăcrămioara, Artenie V., Manoliu Al., 1988 - Analele Științifice, vol. 41, Seria Agronomie, Univ. Agronomică și Medicină Veterinară, p.108-115.

¹ "Al.I.Cuza" Universitățile „Al. I. Cuza” Iași, B-dul Carol I, 11, 6600 Iași- România

² Institut de Recherches Biologiques

* lantohe@uaic.ro