

Invenția se referă la microbiologie și fitopatologie în particular, la un mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de funghi *Trichoderma virens* CNMN-FD-13 – producătoare de biopreparat care poate fi utilizat pentru protecția biologică a plantelor.

Este cunoscut mediul nutritiv de cultivare submersă a tulpinii de funghi *Trichoderma lignorum* F-5 – producătoare de Trichodermin, utilizat la combaterea agenților patogeni ai plantelor de cultură [1]. Componenta mediului nutritiv (g/l): peptonă – 3; zaharoză – 5; extract de porumb – 10; NaNO₃ – 2; apă curentă până la 1 litru. Durata de cultivare constituie 6 zile.

Dezavantajul acestui mediu constă în prețul înalt al peptonei, durata lungă de cultivare a tulpinii, precum și faptul că preparatul conține miceliu granular, care e greu de utilizat.

Se mai cunoaște mediul nutritiv pentru cultivarea tulpinii de funghi *Trichoderma* sp. MГ-97– producătoare de Trihodermin cu următoarea compoziție (g/l): zaharoză – 25,4; extract de porumb – 31,8; KH₂PO₄ – 3,14; MgSO₄·7H₂O – 0,6; agar-agar – 20; apă până la 1 litru. Cultivarea se efectuează pe mediu solid timp de 15 zile la temperatura de 28°C până la obținerea unei pelicule miceliale, care apoi se usucă și se mărunțește sub formă de praf [2].

Dezavantajul acestui mediu constă în perioada îndelungată de cultivare a tulpinii, numărul impunător de etape și lucru anevoios de obținere a preparatului.

În calitate de cea mai apropiată soluție pentru cultivarea submersă a tulpinii *Trichoderma virens* CNMN-FD-13 s-a utilizat mediul Waksman cu următoarea componență (g/l): peptonă – 5,0; glucoză – 10,0; KH₂PO₄ – 1,0; MgSO₄·7H₂O – 0,5; apă potabilă până la 1 litru [3]. Maximumul activității antifungice a biopreparatului obținut la cultivarea tulpinii pe mediul menționat s-a înregistrat în a 6-a zi de cultivare, la temperatura de 27...29°C, în condiții de agitare continuă. Diametrul zonei de inhibiție a fitopatogenilor *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium sporotrichiela*, *Botrytis cinerea*, *Monilia fructigena*, *Monilia cinerea* tratați cu biopreparat constituie 25...30 mm.

Dezavantajul acestui mediu constă în faptul că pe el nu se realizează pe deplin potențialul biosintetic al tulpinii și activitatea antifungică nu atinge valoarea maximă.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui mediu nutritiv de cultivare submersă a tulpinii de funghi *Trichoderma virens* CNMN-FD-13, care să asigure obținerea unui biopreparat cu proprietăți antifungice sporite și reducerea duratei de cultivare.

Esența invenției constă în faptul că se propune un mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de funghi *Trichoderma virens* CNMN-FD-13, componetele fiind luate în următorul raport, g/L: sirop de glucoză – 20; zaharoză – 10; KH₂PO₄ – 1,0; MgSO₄·7H₂O – 1,0; NaNO₃ – 1,0; extract de drojii – 10,0; CaCO₃ – 2,0 și apă – restul, având pH-ul 5,5...6,0.

Rezultatul tehnic al invenției constă în sporirea activității antifungice a biopreparatului față de agenții patogeni *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium sporotrichiela*, *Botrytis cinerea*, *Monilia fructigena*, *Monilia cinerea* de 1,5...2,0 ori față de cea mai apropiată soluție și în reducerea duratei de cultivare cu 1 zi.

Exemplu de realizare a invenției

Tulpina *Trichoderma virens* CNMN-FD-13 s-a cultivat în baloane Erlenmayer de 0,75 l, în care s-au introdus câte 200 ml de mediu proximal și optimizat, în condiții de agitare continuă (200 r.p.m) la temperatura de 27...29°C timp de 5 zile. Culturile fitopatogene au fost însămânțate în cutii Petri pe mediu de malț-agar. În centrul cutiei s-a făcut un godeu de 0,6 mm în care s-a introdus 1 ml de biopreparat. Difuzia biopreparatului a avut loc la temperatura de 4°C timp de 24 ore, după care s-au plasat în termostat pentru incubare timp de 3...4 zile la temperatura de 29°C, apoi s-a măsurat zona de inhibiție a fitopatogenilor. Activitatea antifungică a 1ml de biopreparat obținut prin cultivarea tulpinii în mediul proximal, cât și în mediul optimizat a fost determinat în dinamică începând cu ziua a 4-a de cultivare, în conformitate cu diametrul zonei de inhibiție a fitopatogenilor: *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium sporotrichiela*, *Botrytis cinerea*, *Monilia fructigena*, *Monilia cinerea*. Datele prezentate reprezintă media a 10 probe.

Tabel

Activitatea antifungică a biopreparatului în dependență de durata de cultivare a tulpinii *Trichoderma virens* CNMN-FD-13

Culturile testate	Durata de cultivare, zile				
	Diametrul zonei de inhibiție, mm				
	Mediul proximal			Mediul optimizat	
	4	5	6	4	5
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	20,3 ± 2,36	28,3 ± 1,73	30,7 ± 1,31	35,3 ± 2,85	62,3 ± 2,85
<i>Fusarium sporotrichiela</i>	14,3 ± 1,73	20,3 ± 0,65	24,7 ± 1,85	22,3 ± 2,85	35,3 ± 2,85
<i>Botrytis cinerea</i>	14,7 ± 3,46	20,0 ± 1,13	23,7 ± 1,73	23,7 ± 0,65	36,0 ± 1,96
<i>Monilia fructigena</i>	16,3 ± 1,73	18,3 ± 1,73	24,3 ± 1,31	25,3 ± 0,65	36,3 ± 1,73
<i>Monilia cinerea</i>	15,0 ± 1,13	20,3 ± 0,65	25,0 ± 1,13	20,7 ± 2,36	38,0 ± 1,13

Valoarea maximă a diametrului zonei de inhibiție a fitopatogenilor testați sub acțiunea biopreparatului obținut în mediul proxim de 23,7...30,7 mm a fost înregistrat în a 6-a zi de cultivare a tulpinii *Trioderma virens* CNMN-FD-13.

Valoarea maximă a diametrului zonei de inhibiție a fitopatogenilor testați sub acțiunea biopreparatului obținut în mediul optimizat a fost înregistrată în a 5-a zi de cultivare a tulpinii și este de 1,5...2,0 ori mai mare față de biopreparatul obținut din mediul proxim. Astfel, zona de inhibiție a agentului fitopatogen *Sclerotinia sclerotiorum*, sub acțiunea biopreparatului obținut în mediul optimizat constituie $62,3 \pm 2,85$ mm față de $30,7 \pm 1,31$ mm în mediul proxim, iar zona de inhibiție a agenților fitopatogeni: *Fusarium sporotrichiela*, *Botrytis cinerea*, *Monilia fructigena* și *Monilia cinerea* este de 35,3... 38,0 mm.