



MD 4249 C1 2014.03.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4249** (13) **C1**  
(51) Int.Cl: *C12N 1/14* (2006.01)  
*C12R 1/885* (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: a 2012 0086 (22) Data depozit: 2012.10.12	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2013.08.31, BOPI nr. 8/2013
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE PROTECȚIE A PLANTELOR ȘI AGRICULTURĂ ECOLOGICĂ AL AȘM, MD	
(72) Inventatori: ȘCERBACOVA Tatiana, MD; VOLOȘCIUC Leonid, MD	
(73) Titular: INSTITUTUL DE GENETICĂ, FIZIOLOGIE ȘI PROTECȚIE A PLANTELOR AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	

(54) Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de fungi *Trichoderma virens* CNMN-FD-13

(57) Rezumat:

<sup>1</sup>  
Invenția se referă la microbiologie și fitopatologie, în particular la un mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de fungi *Trichoderma virens* CNMN-FD-13 – producătoare de biopreparat care poate fi utilizat pentru protecția biologică a plantelor.

<sup>2</sup>  
Mediul nutritiv, conform invenției, conține, în g/L: sirop de glucoză – 20,0; zaharoză – 10,0; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,0; MgSO<sub>4</sub>x7H<sub>2</sub>O – 1,0; NaNO<sub>3</sub> – 1,0; extract de drojdii – 10,0; CaCO<sub>3</sub> – 2,0 și apă – restul, având pH-ul 5,5...6,0.

Revendicări: 1

MD 4249 C1 2014.03.31

**(54) Nutrient medium for cultivation of fungal strain *Trishoderma virens* CNMN-FD-13****(57) Abstract:**

1  
The invention relates to microbiology and phytopathology, in particular to a nutrient medium for cultivation of fungal strain *Trishoderma virens* CNMN-FD-13 – producer of biopreparation that may be used for biological protection of plants.

2  
The nutrient medium, according to the invention, comprises, in g/L: glucose syrup – 20.0; sucrose – 10.0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1.0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 1.0;  $\text{NaNO}_3$  – 1.0; yeast extract – 10.0;  $\text{CaCO}_3$  – 2.0 and water – the rest, having the pH 5.5...6.0.

Claims: 1

**(54) Питательная среда для культивирования штамма грибов *Trichoderma virens* CNMN-FD-13****(57) Реферат:**

1  
Изобретение относится к микробиологии и фитопатологии, в частности к питательной среде для культивирования штамма грибов *Trichoderma virens* CNMN-FD-13 – продуцирующий биопрепарат который может быть использован для биологической защиты растений.

2  
Питательная среда, согласно изобретению, содержит, в г/л: глюкозный сироп – 20,0; сахарозу – 10,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 1,0;  $\text{NaNO}_3$  – 1,0; дрожжевой экстракт – 10,0;  $\text{CaCO}_3$  – 2,0 и воду – остальное, имея pH 5,5...6,0.

П. формулы: 1

**Descriere:**

- 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. Componenta mediului nutritiv (g/l): peptonă – 3; zaharoză – 5; extract de porumb – 10; NaNO<sub>3</sub> – 2; apă până la 1 litru. Durata de cultivare constituie 6 zile [1].
- 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; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 3,14; MgSO<sub>4</sub>x7H<sub>2</sub>O – 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 compoziție (g/l): peptonă – 5,0; glucoză – 10,0; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,0; MgSO<sub>4</sub>x7H<sub>2</sub>O – 0,5; apă potabilă până la 1 litru [3].
- 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. 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.
- Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui mediu nutritiv de cultivare submersă a tulpinii de funghi *Trihoderma 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, componentele fiind luate în următorul raport, g/L: sirop de glucoză – 20,0; zaharoză – 10,0; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,0; MgSO<sub>4</sub>x7H<sub>2</sub>O – 1,0; NaNO<sub>3</sub> – 1,0; extract de drojdii – 10,0; CaCO<sub>3</sub> – 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 *Trihoderma virens* CNMN-FD-13 s-a cultivat în baloane Erlenmayer de 0,75 l, în care s-au introdus câte 200 ml de mediu proxim 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 cutiile 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 1 ml de biopreparat obținut prin cultivarea tulpinii în mediul proxim, cât și în mediul optimizat a fost determinată 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.

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 proxim			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

- 5 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 *Trichoderma virens* CNMN-FD-13.
- 10 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 ± 2,85 mm față de 30,7 ± 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.

**(56) Referințe bibliografice citate în descriere:**

1. RU 2121793 C1 1998.11.20
2. RU 2171580 C1 2001.08.10
3. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. Под ред. Егорова М.С. Москва, МГУ, 1995, 224 p

**(57) Revendicări:**

Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de fungi *Trichoderma virens* CNMN-FD-13, care conține sirop de glucoză, zaharoză,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaNO}_3$ , extract de drojdii,  $\text{CaCO}_3$  și apă, având pH-ul 5,5...6,0, componentele fiind luate în următorul raport, g/L:

sirop de glucoză	20,0
zaharoză	10,0
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1,0
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,0
$\text{NaNO}_3$	1,0
extract de drojdii	10,0
$\text{CaCO}_3$	2,0
apă	restul.

**Șef secție:**

IUSTIN Viorel

**Examinator:**

LUPAȘCU Lucian

**Redactor:**

LOZOVANU Maria