

Invenția se referă la microbiologie și fitopatologie în particular la mediul de cultivare a tulpinii *Trichoderma lignorum* CNMN-FD-14 – producătoare de biopreparat care poate fi utilizat pentru protecția biologică și în calitate de stimulator de creștere a plantelor.

Este cunoscut mediul nutritiv de cultivare submersă a tulpinii de fungi *Trichoderma lignorum* F-5 – producătoare de Trihodermin, utilizat pentru combaterea agenților patogeni din genul *Fusarium* [1]. Componența mediului (g/l): peptonă – 3; zaharoză – 5; extract de porumb – 10; NaNO<sub>3</sub> – 2, apă curentă până la 1 litru, durata de cultivare constituie 6 zile.

Dezavantajul acestui mediu constă în prețul înalt al peptonei, durata îndelungată de cultivare, cât și în faptul că preparatul obținut conține miceliul granular, care este greu de utilizat.

Pentru cultivarea tulpinii de fungi *Trichoderma* sp. MI<sup>-</sup> 97 – producătoare de Trihodermin se utilizează mediul cu compoziția (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 – 0,645, agar-agar – 20, apă până la 1 litru [2]. 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 în formă de praf.

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

În calitate de cea mai apropiată soluție s-a utilizat mediul Waksman, care se optimizează în dependență de particularitățile fiziologo-biochimice ale tulpinii, cu următoarea componență (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; pH – 5,5-6,0 [3].

În urma cultivării submerse a tulpinii *Trichoderma lignorum* CNMN-FD-14 pe mediul menționat, timp de 6 zile la temperatura de 28-30°C, în condiții de agitare continuă, se obține un biopreparat care manifestă activitate antifungică față de speciile *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium sporotrichiela* și *Botrytis cinerea*, diametrul zonei de inhibiție constituind 26,7-33,3 mm, această proprietate conducând la stimularea creșterii plantulelor de floarea soarelui cu 38%.

Dezavantajul celei mai apropiate soluții constă în faptul că pe mediul Waksman tulpina nu-și realizează potențialul antifungal maxim.

Problema tehnică pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui mediu nutritiv de cultivare submersă a tulpinii *Trichoderma virens* CNMN-FD-13, care să asigure obținerea unui biopreparat cu proprietăți antifungale și stimulatorii de creștere a plantelor și, de asemenea, să conducă la reducerea duratei de cultivare.

Esența invenției constă în faptul că se propune un mediu nutritiv optimizat pentru cultivarea tulpinii de fungi *Trichoderma lignorum* CNMN-FD-14, componențele fiind luate în următorul raport (g/l): melasă de sfeclă - 20,0; zaharoză - 10,0; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> - 2,0; MgSO<sub>4</sub>x7H<sub>2</sub>O - 1,0; NaNO<sub>3</sub> - 2,0; CaCO<sub>3</sub>- 2,0; apă curentă până la 1 litru; pH 5,5 – 6,0.

Rezultatul tehnic al invenției constă în reducerea duratei de cultivare a tulpinii de fungi cu 2 zile și în obținerea unui biopreparat cu proprietăți antifungice și stimulatorii mai pronunțate față de cea mai apropiată soluție.

Datele prezentate sunt media a 10 probe.

Exemple de realizare a invenției

#### Exemplu 1

Tulpina *Trichoderma lignorum* CNMN-FD-14 se cultivă în baloane Erlenmayer de 0,75L în care se introduc câte 200 ml de mediu din cadrul celei mai apropiate soluții, cu compoziția (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; pH- 5,5-6,0 și paralel 200 ml de mediu optimizat ce conține (g/l): melasă din sfeclă de zahăr - 20,0; zaharoză - 10,0; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> - 2,0; MgSO<sub>4</sub>x7H<sub>2</sub>O - 1,0; NaNO<sub>3</sub> - 2,0; CaCO<sub>3</sub> -2,0; apă potabilă până la 1 litru; pH-ul 5,5 – 6,0, în condiții de agitare continuă (200 rpm), la temperatura de 28...30°C, timp de 7 zile.

Activitatea antifungică a biopreparatelor obținute se determină în dinamică începând cu ziua a 4-a, conform metodei de difuzie. Fitopatogenii *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium sporotrichiela* și *Botrytis cinerea* se însămânțează în cutii Petri cu mediu malț-agar, apoi în fiecare cutie se face câte un godeu în care se introduce câte 1ml biopreparat. Difuzia biopreparatului durează 24 ore, la temperatura de 4°C, apoi se inoculează fitopatogenii, care se cultivă timp de 3-4 zile, la temperatura de 28-30°C. Activitatea antifungică se determină conform diametrului zonei de inhibiție a fitopatogenilor.

Maximul activității antifungice față de *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium sporotrichiela* și *Botrytis cinerea* a biopreparatului obținut pe mediul proxim a fost înregistrat după 6 zile de cultivare (diametrul zonelor de inhibiție – 33,3; 26,0 și 26,7 mm, respectiv), iar pe mediul propus după 4 zile de cultivare (diametrul zonelor de inhibiție – 60,7; 40,0 și 35,7 mm, respectiv).

Tabelul 1

Activitatea antifungică a biopreparatului în dependență de durata și mediul de cultivare a tulpinii *Trichoderma lignorum* CNMN-FD-14

Culturile-Test	Durata de cultivare, zile. Diametrul zonei de inhibiție (mm)						
	Mediul proxim				Mediul optimizat		
	4	5	6		4		
Sclerotinia sclerotiorum	18,7 ± 2,36	26,3 ± 1,31	33,3 ± 2,36		60,7 ± 2,36		
Fusarium sporotrichiela	14,0 ± 1,13	20,3 ± 0,65	26,0 ± 1,13		40,0 ± 1,31		
Botrytis cinerea	13,3 ± 1,31	19,7 ± 1,73	26,7 ± 0,65		35,7 ± 1,73		

## Exemplul 2

Pentru verificarea prin comparație a efectului stimulator al biopreparatului obținut pe mediul proxim, cât și pe cel optimizat a fost montată o experiență vegetativă de laborator. În calitate de material semincer s-au folosit boabe de floarea soarelui (soiul Rodnicio).

Experiențele s-au efectuat în condiții de cameră, la temperatura de 20... 24°C, în sol steril, cu umiditatea de 60...80% și iluminarea de zi. Durata experimentului a constituit 10 zile.

Prelucrarea semințelor de floarea soarelui s-a făcut cu biopreparatul obținut pe mediul proxim după 6 zile de cultivare, iar cu preparatul obținut pe mediul optimizat după 4 zile de cultivare a producătorului.

Rezultatele obținute în experiențele de laborator au arătat că biopreparatul obținut pe mediul optimizat în comparație cu biopreparatul proxim este mai efektiv.

## Tabelul 2

Activitatea stimuloare a biopreparatului pentru floarea soarelui în dependență de mediul de cultivare a tulpinii *Trichoderma lignorum* CNMN-FD-14

Indicii de biomasă, M±m	Tratarea semințelor cu biopreparat proxim	Tratarea semințelor cu biopreparat optimizat
Lungimea plantulei, cm.	7,1±0,3	9,8±0,28
Masa a 100 de plantule, gr.	74,2±4,5	86,8±3,2
Masa rădăcinilor la 100 plantule, gr.	9,1±0,4	11,6±0,45

Masa a 100 de plantule și masa rădăcinilor la 100 plantule de floarea soarelui sub influența biopreparatului obținut pe mediul optimizat a sporit cu 17,0% și 27,50% respectiv, iar lungimea plantulelor – cu 38% față de proxim.