



MD 4249 B1 2013.08.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4249** (13) **B1**  
(51) Int.Cl: *C12N 1/14* (2006.01)  
*C12R 1/885* (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

<b>In termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului</b>	
(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 PROTECȚIE A PLANTELOR ȘI AGRICULTURĂ ECOLOGICĂ AL AȘM, MD	

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

(57) **Rezumat:**

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 bio-preparat care poate fi utilizat pentru protecția biologică a plantelor.

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 B1 2013.08.31

**(54) Nutrient medium for cultivation of fungal strain *Trichoderma 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  
*Trichoderma virens* CNMN-FD-13 – producer  
of biopreparation that may be used for  
biological protection of plants.

2  
5 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;  
10  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 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.

15 Claims: 1

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

**(57) Реферат:**

1  
Изобретение относится к микробиоло-  
гии 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  
5 Питательная среда, согласно изобре-  
тению, содержит, в г/л: глюкозный сироп –  
20,0; сахарозу – 10,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1,0;  
10  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 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.

15 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.

5 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].

10 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.* MF-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].

20 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].

25 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.

30 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.

35 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 drojzii – 10,0; CaCO<sub>3</sub> – 2,0 și apă – restul, având pH-ul 5,5...6,0.

40 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.

45 *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.

*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 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.

20

**(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 с

**(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