

Invenția se referă la microbiologie și fitopatologie, în particular la un mediu de cultivare a tulpinii *Penicillium corylophilum* CNMN-FD-20, producătoare de biopreparat, care poate fi utilizat în protecția biologică a plantelor.

Este cunoscut mediul nutritiv de cultivare submersă a micromicetei *Penicillium vermiculatum* Dang. B13P-24 – producătoare de vermiculen, preparat utilizat pentru combaterea agenților patogeni ai plantelor de cultură [1]. Acest preparat poate fi obținut la cultivarea pe medii solide ce conțin pleavă și semințe de floarea-soarelui, în raport de 1:3, sau resturi de la curățarea semințelor de floarea-soarelui cu adaos de 0,3% humat de sodiu. Cultivarea durează 30 de zile. Componenta mediului nutritiv lichid constă din săruri minerale și melasă.

Dezavantajul acestui mediu constă în inaccesibilitatea componentelor pe care le conține, durata lungă de cultivare a tulpinii, totodată preparatul solid ce conține miceliul granular este greu de utilizat.

Pentru cultivarea micromicetelor PV-3 *Penicillium verrucosum* și PF-1 *Penicillium funiculosum* – producătoare de biopreparate, se utilizează atât mediul Rudacov agarizat, cât și lichid cu compoziția (g/L): zaharoză 50,0, extract de porumb 10,0, KH₂PO₄ 2,0, MgSO₄ 2,0, FeSO₄ 0,1, CuSO₄ 0,1, MnSO₄ 1, apă până la 1 litru [2]. Cultivarea pe mediul solid se efectuează timp de 6...15 zile, iar pe mediul lichid – timp de 4 zile, la temperatura de 30°C.

Dezavantajul constă în inaccesibilitatea extractului de porumb, de asemenea durata mare de cultivare pe mediul solid, numărul impunător de etape și lucru anevoios de obținere a biopreparatului.

În calitate de cea mai apropiată soluție poate servi mediul nutritiv pentru cultivarea micromicetelor Waxman cu următoarea compoziție (g/L): glucoză 10,0, peptonă 5,0, KH₂PO₄ 1,0, MgSO₄·7H₂O 0,5, apă distilată până la 1 litru, pH 5,5...6,0 [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 28...30°C, în condiții de agitare continuă. Diametrul zonei de inhibiție a fitopatogenilor: *Alt. alternata*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium gibbosum*, *Botrytis cinerea* tratați cu biopreparat constituie 25...30 mm.

Dezavantajul mediului proximal este prețul mare al peptonei, care intră în componența mediului, totodată pe acest mediu nu se realizează pe deplin potențialul biosintetic al tulpinii *Penicillium corylophilum* CNMN-FD-20.

Problema tehnică pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui mediu nutritiv de cultivare submersă a tulpinii *Penicillium corylophilum* CNMN-FD-20, care să asigure obținerea unui biopreparat cu proprietăți antifungice sporite și reducerea duratei de cultivare.

Invenția soluționează problema prin aceea că se propune un mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de fungi *Penicillium corylophilum* CNMN-FD-20, care conține, în g/L: glucoză 30,0, NaNO₃ 1,0, KH₂PO₄ 1,0, MgSO₄·7H₂O 1,0, CaCO₃ 2,0, extract de drojii 10,0 ml și apă distilată, restul, având un pH inițial de 6,0...6,2, care asigură biopreparatului obținut un nivel al proprietăților antifungice de 1,2...1,5 ori mai înalt față de prototip pentru combaterea agenților patogeni: *Alt. alternata*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium gibbosum*, *Botrytis cinerea*.

Rezultatul tehnic al invenției constă în reducerea duratei de cultivare a tulpinii *Penicillium corylophilum* CNMN-FD-20 cu 1 zi și sporirea activității antifungice a biopreparatului obținut de 1,2...1,5 ori față de prototip.

Datele prezentare reprezintă media a 10 probe.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1

Tulpina *Penicillium corylophilum* CNMN-FD-20 s-a cultivat în baloane Erlenmayer de 0,5 L în care s-au introdus paralel câte 100 ml mediu prototip și mediul optimizat, în condiții de agitare continuă (200 r.p.m.) la temperatura de 28...30°C timp de 7 zile. Biopreparatul reprezintă lichidul cultural obținut la separarea mediului de cultivare de biomasa tulpinii prin filtrare. Culturile fitopatogene au fost însămânțate în cutii Petri pe mediul agarizat maș-agar. La mijlocul cutiei s-a făcut o luncă de 0,8 mm, în care s-a introdus câte 1 ml de biopreparat. Difuzia biopreparatului s-a produs la temperatura de 4°C timp de 24 ore, după care cutiile au fost amplasate în termostat, la temperatura de 30°C, pentru incubare. Peste 4 zile de incubare s-au efectuat măsurările zonei de inhibiție a fitopatogenilor. Activitatea antifungică a biopreparatului obținut prin cultivarea tulpinii în mediul proximal, cât și în mediul optimizat a fost determinată în dinamică după diametrul zonei de inhibiție a fitopatogenilor: *Alt. alternata*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium gibbosum*, *Botrytis cinerea*.

Tabel

Dinamica activității antifungice a biopreparatului obținut la cultivarea tulpinii *Penicillium corylophilum* CNMN-FD-20 pe diferite medii nutritive

Test culturi	Durata de cultivare, zile							
	Diametrul zonei de inhibiție, mm							
	Mediul prototip				Mediul optimizat			
	4	5	6	7	4	5	6	7
<i>Alternaria alternata</i>	20,3 ± 2,36	23,0 ± 1,13	25,0 ± 1,21	23,7 ± 1,35	25,5 ± 1,25	30,3 ± 2,85	28,7 ± 1,50	25,0 ± 1,25
<i>Botrytis cinerea</i>	12,5 ± 1,50	20,5 ± 1,25	25,0 ± 1,45	22,0 ± 0,65	25,3 ± 1,85	30,0 ± 2,85	25,0 ± 2,50	22,0 ± 2,0
<i>Fusarium solani</i>	14,7 ± 3,46	22,0 ± 1,35	25,0 ± 1,35	21, ± 1,35	28,5 ± 1,25	35,0 ± 1,22	30,3 ± 1,13	25,0 ± 1,0

<i>Fusarium oxysporum</i>	17,5 ± 1,50	25,3 ± 1,73	26,5 ± 1,11	25,0 ± 1,50	35,5 ± 1,35	40,0 ± 1,33	35,0 ± 2,25	25,0 ± 1,73
<i>Fusarium gibbosum</i>	16,0 ± 1,35	23,5 ± 1,25	30,0 ± 1,13	25,5 ± 1,13	25,7 ± 1,35	36,0 ± 1,10	30,3 ± 1,13	25,0 ± 1,0

Evaluând în dinamică activitatea antifungică a metaboliților tulpinii *Penicillium corylophilum* CNMN-FD-20, cultivată pe mediile proxim și cel propus, s-a constatat că valoarea maximă a diametrului zonei de inhibiție a fitopatogenilor testați în varianta proximă se obține după 6 zile de cultivare, diametrul zonei de inhibiție a fitopatogenilor variază în limitele 25...30 mm, iar în varianta cu mediul propus – după 5 zile de cultivare și constituie 30...40 mm. Rezultatele obținute demonstrează că utilizând mediul propus putem majora activitatea antifungică a metaboliților de 1,2...1,5 ori și micșora durata de obținere a biopreparatului cu 1 zi.

Exemplul 2

Tulpina *Penicillium corylophilum* CNMN-FD-20 s-a cultivat în baloane Erlenmayer de 1 L, în care s-au introdus 200 ml mediu nutritiv, în condiții de agitare continuă (200 r.p.m.) la temperatura de 28...30°C timp de 7 zile. Activitatea antifungică a biopreparatului, obținut prin cultivarea tulpinii pe mediul proxim și pe mediul optimizat, se determină în dinamică după 4...7 zile de cultivare, după diametrul zonei de inhibiție a fitopatogenilor: *Alt. alternata*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium gibbosum*, *Botrytis cinerea*.

Diametrul maxim al zonei de inhibiție a fitopatogenilor testați la utilizarea biopreparatului obținut în varianta proximă a fost înregistrat după 6 zile de cultivare a tulpinii și constituie (mm): *Alt. alternata* 26,1 ± 1,31, *Fusarium solani* 25,0 ± 2,5, *Fusarium oxysporum* 27,5 ± 1,35, *Fusarium gibbosum* 28,5 ± 2,3, *Botrytis cinerea* 27,0 ± 1,25.

Diametrul zonei de inhibiție a fitopatogenilor testați cu biopreparat obținut la cultivarea *Penicillium corylophilum* CNMN-FD-20 în varianta propusă timp de 5 zile, constituie (mm): *Alt. alternata* 32,5 ± 1,50, *Fusarium solani* 37,0 ± 1,35, *Fusarium oxysporum* 43,5 ± 2,50, *Fusarium gibbosum* 35,5 ± 1,50, *Botrytis cinerea* 33,3 ± 1,25.

La cultivarea tulpinii *Penicillium corylophilum* CNMN FD 20 în mediul propus, activitatea antifungică maximă a biopreparatului este obținută cu o zi mai devreme fiind de 1,2...1,5 ori mai mare.