

## REZUMAT

Al tezei de doctorat intitulată "CONTRIBUȚII LA STUDIU UTILIZĂRII CIUPERCILOR *TRICHODERMA HARZIANUM* ȘI *T. KONINGII*, PENTRU CONTROLUL CIUPERCILOR PATOGENE DIN SOL, CARACTERIZAREA LOR ENZIMATICA ȘI PREPARAREA BIOFUNGICIDULUI" elaborata de drd. MOHAMMED NAITHEL RADHI, conducător științific, Prof.univ.dr. Ioan ROȘCA, 2018, USAMV, București

**CUVINTE CHEIE:** Combatere biologică, patogeni sol, caractere biopesticide, *Trichoderma harzianum*, *T. koningii*, producere enzime, tomate

A fost realizat un studiu microbiologic și biologic al bio-funghiilor *T. harzianum* și *T. koningii*, care a inclus studiul efectului producerii și filtrării enzimelor acestor bio-ciuperci, precum și studiul efectului încărcării sporilor bio-fungici pe acid alginic și 2% CMC pentru pregătirea unor preparate împotriva fungilor patogeni *F. oxysporum*, *R. solani* și *Pythium* spp. în experiențe de laborator și de câmp pe plante de tomate.

Rezultatele au arătat capacitatea funghiilor *T. harzianum* și *T. koningii* de a inhiba creșterea fungilor patogeni *F. oxysporum*, *R. solani* și *Pythium* spp. prin procesul de cultură dublă, raportul antagonist a ajuns la 1 în cazul patogenilor *F. oxysporum* și *Pythium* spp, în timp ce în cazul lui *R. solani* raportul antagonist a ajuns la 2, apreciere făcută în funcție de scara Bell.

Referitor la rezultatele creșterii ciupercilor în extractul de malț lichid după 12 ore de cultură a fungilor, *F. oxysporium* a atins cea mai mare creștere a ciupercii (0,42), urmată de ciupercile *Pythium* spp. și *T. harzianum* (0,37) și respectiv (0,33), pentru *T. koningii* și *R. solani* creșterea la 0,31 și respectiv 0,30, de asemenea, creșterea ciupercilor plantelor în mediu de extract de malț lichid după 72 de ore de la cultură, a atins cea mai mare creștere (1,30) la *T. koningii*, urmată de ciupercile *T. harzianum*, *F. oxysporium*, *Pythium* spp. și *R. solani* care au atins o creștere respectiv de 0,95, 0,87, 0,17 și 0,14.

Studiul a arătat capacitatea biofungiilor *T. harzianum* și *T. koningii* de a produce enzimele celulază, amilază, chitinază, lipază și protează. Diametrul haloului format pe mediul solid pentru celulază a ajuns la 5,75 cm și 6,5 cm pentru *T. harzianum* și respectiv *T. koningii*, producția amilazei a fost foarte scăzută și a atins până la 1 cm în *T. harzianum* și 0,75 cm în cazul speciei *T. koningii*. Producția de chitinază a fost de 5,25 cm la *T. harzianum* și 6,25 cm la *T. koningii* în cazul Pentru producerii de lipaze au apărut cristale albe imersate în mediul din jurul coloniei de *T. harzianum* și *T. koningii*. Diametrul haloului format pe mediul solid pentru protează a ajuns la 1,7

cm și 2,6 cm în cazul speciei *T. harzianum* și respectiv în cazul speciei *T. koningii*. De asemenea, rezultatele arată capacitatea fungilor *T. harzianum* și *T. koningii* de a dizolva fosforul din mediu solid, astfel diametrul haloului a fost de 1,8 cm și 2,5 pentru ciupercile *T. harzianum* și respectiv *T. koningii*. Rezultatele filtratelor biofungilor, puse în concentrații diferite, în experiențele din cutii Petri pe mediu PDA, au arătat capacitatea lor inhibitoare împotriva ciupercilor patogene unde cea mai mare inhibare a fost atunci când s-au folosit 30% filtrate biofungice. De asemenea, rezultatele au arătat că biofungii *T. harzianum* și *T. koningii* au fost capabili să producă enzime în bulionul dextroză de cartofi (PDB) deoarece după o săptămână de cultură a ciupercilor, se poate observa că producția cea mai ridicată dintre enzime a fost în cazul enzimei chitinază (0,1549), în timp ce producția cea mai scăzută de enzime a fost în cazul enzimei amilază (0,000125). În timp ce producția de enzime pentru *T. koningii* cultivată în PDB a arătat că cea mai mare producție de enzime a fost în cazul enzimei chitinazică (0,09985), în timp ce producția cea mai scăzută de enzime a fost în cazul enzimei amilază (0,000482).

Rezultatele pH-ului optim pentru producția de enzime în cazul cultivării ciupercilor biogene *T. harzianum* și *T. koningii* au arătat că cea mai mare producție a ciupercilor biogene a fost la pH = 6 pentru FPază, CMCază, celobioză, amilază, chitinază și protează. În timp ce producția cea mai mare pentru enzima lipază în cazul cultivării ciupercilor biogene *T. harzianum* și *T. koningii* a fost la pH = 9. Studiul a arătat, de asemenea, capacitatea fungilor *T. harzianum* și *T. koningii* de a produce eficient enzime în mediul de creștere indus. Rezultatele enzimei FPază au arătat că cele două ciuperci pot produce FPază, dar nivelul acesteia la *T. koningii* a fost mai mare decât la *T. harzianum*, iar pentru cele două ciuperci biogene perioada de 14 zile a fost cea care a dat cea mai mare producție de FPază, care a atins până la (0,244 și 0,078  $\mu\text{mol/ml/min}$ ) în *T. koningii* și respectiv *T. harzianum*. De asemenea, producția enzimei CMCază în mediu sintetic la *T. koningii* a fost (0,260 UI/ml/min) și a fost mai mare decât la *T. harzianum*, care a ajuns la (0,095 UI/ml/min), iar în a doua săptămână s-a realizat cea mai mare producție a enzimei, nivelurile de celobioză la *T. koningii* a fost mai mare decât la *T. harzianum*, iar pentru cele două ciuperci perioada de 14 zile a fost cea în care s-a realizat cea mai mare producție a enzimei, care a atins valoarea de 0,192 și 0,130 UI/ml/min la *T. koningii* și respectiv *T. harzianum*. Producerea enzimei amilază în mediu sintetic la *T. koningii* = 0,336 U/ $\mu\text{mol}$  maltoză/oră a fost mai mare decât la *T. harzianum* = 0,284 U/ $\mu\text{mol}$  maltoză/oră și în a doua săptămână a fost cea mai mare producție a enzimei. Rezultatele referitoare la producerea enzimei chitinază au arătat că cele două ciuperci biogene pot produce chitinază, dar nivelul acesteia la *T. harzianum* a fost mai mare decât la *T. koningii*, iar pentru cele două ciuperci perioada de 14 zile a fost perioada cu cea mai mare producție a enzimei, de asemenea și, nivelurile de enzime de chitinază au fost de 0,422 și 0,481  $\mu\text{mol / min}$  în *T. koningii* și respectiv *T. harzianum*. Producția enzimei lipază în mediu sintetic la

*T. koningii* = 0,242 U/ml a fost mai mare decât la *T. harzianum* = 0,093 U/ml și în a doua săptămână a fost cea mai mare producție a enzimei, nivelurile de protează la *T. koningii* au fost mai mari decât la *T. harzianum*, iar perioada de incubație de 30 de zile a fost cu cea mai mare producție a enzimei. Nivelurile enzimei protează au fost de 22, 57 și 20,64 U/mg proteina la *T. koningii* și respectiv *T. harzianum*. Rezultatele cântăririi miceliului au arătat că greutatea acestuia în a doua și a treia săptămână a fost mai mare decât în prima și a patra săptămână, de asemenea, CMCaza a fost cea mai mare referitor la greutate, în comparație cu celelalte enzime. Nivelurile de proteine pentru toate enzimele produse de *T. koningii* și *T. harzianum* au fost afară celule mai mari decât în cellule. De asemenea, rezultatele caracterizării enzimelor produse de *T. koningii* și *T. harzianum* privind efectul acestora asupra fungilor patogeni *F. oxysporum*, *R. solani* și *Pythium* spp. în mediu PDA a arătat efectul unora din aceste enzime asupra acestor ciuperci patogene. Rezultatele efectului fungiilor *T. harzianum* și *T. koningii* și al amestecului acestora asupra fungilor patogeni (*F. oxysporum*, *R. solani* și *Pythium* sp.) asupra plantei de tomate, în condiții de laborator, în ghivece, au arătat că cel mai mare procent de germinare a fost în urma tratamentului cu ciupercile biogene *T. koningii* și *T. harzianum* ajungând la 100% și respectiv 93,33%, cel mai mic procent de germinare prin impactul fungiilor patogeni a fost *R. solani* unde a ajuns la 53,33%. Analizând în timp rezultatele referitoare la numărul răsadurilor moarte, se observă că cel mai mare procent de mortalitate a răsadurilor apare în urma tratamentului răsadurilor de tomate cu ciuperci patogenă *R. solani*, procent care a ajuns la 37,5%. Cel mai mic procent al răsadurilor de tomate moarte (0%) a fost în cazul tratamentelor cu ciupercile biogene *T. harzianum*, *T. koningii*, extractului de *T. harzianum*, extractului de *T. koningii* și în cazul martorului a ajuns la 0%. Rezultatele severității infecției au arătat, de asemenea, cel mai mare raport de severitate a infecției a fost în cazul infectării cu *R. solani* și tratamentului cu ciuperca patogenă *F. oxysporum*, raport ce a ajuns la 60 % și respectiv 50 %, cel mai mic raport al severității infecției a fost în cazul inoculării cu *T. harzianum*, *T. koningii*, extract de *T. harzianum*, extract de *T. koningii* și martorul a ajuns la 0%.

Rezultatele referitoare la factorii de creștere ai plantei, cea mai mare lungime a frunzei a rezultat în urma tratamentului cu *T. harzianum*, lungime care a ajuns la 16,66 cm, urmată de tratamentul cu *T. koningii*, lungimea ajungând la 14,33 cm., iar pentru rezultatele privind lățimea frunzulițelor rezultă că în urma tratamentelor cu *T. harzianum* lățimea frunzulițelor a fost de 3,33 cm și de 3,16 cm în cazul *T. koningii* cele mai ridicate din variantele experimentale.

Rezultatele referitor la lungimea rădăcinii au fost următoarele: cele mai înalte rădăcini au fost la tratamentele cu *T. koningii* și *T. harzianum*, lungime ce a ajuns la 14,0 și respectiv 13,5 cm.

Rezultatele referitoare la numărul de frunze al plantelor supuse diferitelor variante de tratament au arătat un raport ridicat al numărului de frunze la tratamentele cu *T. koningii* și *T. harzianum* număr de frunze ce a ajuns la 6,33, respectiv 5,66.

Rezultatele numărului de frunzulițe prospecte arată că numărul cel mai mare al frunzulițelor prospectelor a fost în cazul tratamentelor cu *T. harzianum* și *T. koningii*, care au fost de 9,33 frunzulițe pentru *T. harzianum* și 8,33 frunzuliță pentru *T. koningii*. Analizând procentul de fosfor din plante, se constată că cel mai mare procent de fosfor a fost în cazul tratamentului cu *T. harzianum* și *T. koningii* ajungând la 0,46 și 0,45 mg/kg respectiv, cele mai ridicate nivele de clorofilă în clorofilă a ( $C_a$ ), clorofilă b ( $C_b$ ) și clorofilă de xantofil (x) plus carotenoide (c)  $C_{x+c}$  au fost înregistrate atunci când s-a aplicat extrase din *T. harzianum* și extract de *T. koningii* valorile clorofilei au atins până la 8,87 și 8,04 pentru  $C_a$  și, respectiv, pentru  $C_b$  au fost 3,42 și 3,00 pentru extractul de *T. harzianum* și extractul de *T. koningii* respectiv, iar pentru  $C_{x+c}$  nivelul în extract de *T. harzianum* și extractul *T. koningii* care au ajuns la 585,63, respectiv 532,65.

Rezultatele efectului de ciupercilor biogene încărcate pe acid alginic și 2% CMC asupra procentului de germinare și mortalității răsadurilor de tomate în ghivece din sticlă au arătat capacitatea bio-fungilor încărcăți pe 2% CMC și pe acid alginic, de a crește procentul de germinare și a scădea mortalitatea răsadurilor de tomate, dar efectul în cazul bio-ciupercilor încărcate pe 2% CMC a fost mai mare decât în cazul bio-ciupercilor încărcate pe acid alginic.

Rezultatele experimentului de câmp au fost completate de rezultatele obținute în ghivecele din seră, caz în care s-a dovedit capacitatea tratamentelor cu fungi biogeni încărcăți pe acid alginic și 2% CMC de a asigura protecția plantelor de tomate față de atacul ciupercilor patogene. Tratamentele cu fungi biogeni încărcăți pe acid alginic au un efect semnificativ asupra înălțimii și diametrului tulpinii, greutatei fructului, greutatei rădăcinii uscate și moi, greutatei corpului vegetal uscat și moale, clorofilei, azotului, fosforului, respirației, fotosintezei și mai ales contribuie la scăderea severității atacului ciupercilor patogene asupra plantelor de tomate.