

REZUMAT

al tezei de doctorat intitulată:

CERCETĂRI PRIVIND CONTAMINAREA GRÂULUI CU SPECII DE *FUSARIUM* ÎN CONDIȚIILE SCHIMBĂRILOR CLIMATICE

Doctorand: **URSAN (DINCĂ) Mihaela Daniela**

Coordonator științific: **Prof. univ.Dr. CORNEA Călina Petruța**

CUVINTE-CHEIE: grâu, *Fusarium* spp., condiții climatice, fungicide, biocontrol

Grâul este cultura cea mai larg răspândită la nivel mondial și reprezintă materia primă majoră pentru industria alimentară, cât și interes esențial pentru sectorul agricol. Fuzarioza este o boală ce afectează cerealele atunci când temperatura și umiditatea sunt crescute, prin urmare se impun cercetări de specialitate și identificarea unor metode de combatere în urma schimbărilor climatice din ce în ce mai nefavorabile.

Teza de doctorat intitulată „**CERCETĂRI PRIVIND CONTAMINAREA GRÂULUI CU SPECII DE *FUSARIUM* ÎN CONDIȚIILE SCHIMBĂRILOR CLIMATICE**”, cuprinde două părți ce însumează 5 capitole. Prima parte este formată din stadiul actual al cercetărilor privind contaminarea cu *Fusarium* a culturilor de grâu, iar partea a doua cuprinde cercetările proprii.

CAPITOLUL I abordează aspecte din literatura de specialitate și reprezintă Partea I a tezei. Este intitulat „STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII FUZARIOZEI GRÂULUI”, iar în paginile acestui capitol, se prezintă elementele de patografie, ecologie și management ale speciilor de *Fusarium*, ce sunt însoțite de imagini sugestive. De asemenea, în același capitol sunt adăugate informații cu privire la micotoxinele asociate speciilor genului *Fusarium*.

Partea a-II-a a tezei, detaliază în 4 capitole cadrul în care s-au desfășurat cercetările *in-vivo* privind contaminarea cu specii de *Fusarium* a grâului (CAPITOLUL II), cât și cercetările *in-vitro* privind contaminarea cariopselor de grâu cu specii de *Fusarium* (CAPITOLUL III), urmate de cercetări privind selectarea unor doze reduse de fungicide pentru combaterea fungilor din genul *Fusarium* (CAPITOLUL IV) și utilizarea unor tulpini microbiene pentru inhibarea dezvoltării unor fungi fitopatogeni (CAPITOLUL V).

În CAPITOLUL II al tezei, intitulat „CERCETĂRI *IN-VIVO* PRIVIND CONTAMINAREA CU SPECII DE *FUSARIUM* A GRÂULUI”, se prezintă cele două locații în care s-au derulat cercetările: comuna Unirea, județul Brăila și comuna Topolovățu Mare, județul Timiș și condițiile climatice specifice perioadei de cercetare 2017-2020 în care sunt analizate 4 soiuri din specia *Triticum aestivum* (grâu comun de toamnă). Experiența a fost bifactorială, în trei repetiții, fiind organizată în cele două locații diferite din punct de vedere pedoclimatic. Dintre cele patru soiuri de grâu studiate, cel mai sensibil la atacul de fuzarioză a fost soiul Miranda, iar cel mai rezistent a fost soiul Glosa, urmat de soiurile Apache și PG101. La tratamentele cu fungicide, cele mai bune rezultate în limitarea atacului s-au observat la soiul Glosa, urmat de soiul Apache și PG101. Producțiile medii obținute în cele două câmpuri experimentale au fost cuprinse între 4854 kg/ha (soiul Miranda, netratat) și 7187 kg/ha (soiul Glosa, tratat cu doza uzuală), la Unirea – județul Brăila, și între 4602 kg/ha (soiul Miranda, netratat) și 7513 kg/ha (soiul Apache, tratat cu doza uzuală), la Topolovățu Mare – județul Timiș.

Corelațiile dintre dozele de fungicide aplicate și producțiile obținute la soiurile studiate în cele două câmpuri experimentale, au fost negative distinct semnificative (cu cât doza a fost mai mică, numărul de spice atacate de fuzarioză a fost mai mare).

CAPITOLUL III, denumit "CERCETĂRI *IN-VITRO* PRIVIND CONTAMINAREA CARIOPSELOR DE GRÂU CU SPECII DE *FUSARIUM*", prezintă materialul și metodele prin care s-au detectat și izolat potențialii contaminanți de natură fungică din și de pe cariopsele de grâu recoltate din cele două zone climatice în perioada 2017-2020, ale soiurilor menționate anterior. Au fost utilizate două medii de cultură semi-selective pentru speciile din genul *Fusarium*: mediul PPA și mediul MGA, ambele suplimentate cu antibiotice. S-a constatat că morfologia coloniilor variază atât de la un izolat la altul, în cazul cultivării pe același substrat, cât și în funcție de substratul nutritiv, în cazul aceleiași tulpini cultivate pe medii nutritive diferite. Astfel, mediul MGA s-a dovedit a fi mai eficient pentru izolarea tulpinilor de *Fusarium* sp., cu mai puțini contaminanți decât PPA. Pentru identificarea contaminanților izolați din cariopsele de grâu au fost utilizate atât metode microbiologice clasice (evidențierea unor caractere microscopice ale izolatelor fungice), cât și metode bazate pe o serie de caracteristici biochimice (sistemul BIOLOG) sau metode moleculare (PCR cu primeri specie-specifiți).

Acest capitol, a avut ca rezultat detecția, izolarea și identificarea biochimică și moleculară a 9 tulpini aparținând acestui gen. Tulpinile izolate au fost caracterizate din punct de vedere al morfologiei, ratei de creștere și pigmentației. Pentru cele 9 izolate obținute de pe materialul vegetal rezultatele au fost diferite: dintre tulpinile analizate doar două au fost încadrate la specia *F.graminearum* (tulpinile E25A F1-10/ Sp2 și E28A 2-1/ Sp7+Sp8 P2 B), iar două la *F.culmorum* (tulpinile notate E25A F1-10/ Sp3 și E28A F2-1/ Sp7+Sp8 P2 A).

Cel de al IV-lea CAPITOL, numit "CERCETĂRI PRIVIND SELECTAREA UNOR DOZE REDUSE DE FUNGICIDE PENTRU COMBATEREA FUNGILOR DIN GENUL *FUSARIUM*" a fost realizat ca urmare a contextului actual european, în care există o cerere de diminuare a cantității de pesticide utilizate în agricultură. Cercetările *in vitro* au urmărit eficacitatea a trei fungicide comerciale aplicate în doze reduse în inhibarea creșterii miceliene a șase tulpini aparținând speciilor *F. culmorum* și *F. graminearum*. Astfel, tulpinile de *F. culmorum* testate s-au dovedit sensibile în prezența dozelor reduse în cazul produsele CF2-F (triadimenol + spiroxamina + tebuconazol) și CF3-FP (protiocanazol, spiroxamină și tebuconazol), comparativ cu produsul CF1-NP (trifloxistrobin și protiocanazol). Rezultatele obținute pe parcursul experimentelor, după 5, 7 și 10 zile de incubare au evidențiat faptul că tulpina *Fusarium graminearum* Fg96 a fost cea mai tolerantă la toate pesticidele utilizate. Tulpina Fg96 a prezentat creșterea miceliană în toate variantele tratate cu pesticid atât în doză mică, cât și în doza de aplicare recomandat, nefiind inhibată în prezența celor trei produse testate, indiferent de doza utilizată.

Ultimul, CAPITOLUL V, intitulat "CERCETĂRI *IN-VITRO* PRIVIND UTILIZAREA UNOR TULPINI MICROBIENE PENTRU INHIBAREA DEZVOLTĂRII UNOR FUNGI PATOGENI" scoate în evidență posibilitatea reducerii contaminării cu micotoxine a recoltelor de grâu cu produse biologice de protecție a plantelor.

În cadrul experimentelor efectuate, au fost urmărite evidențierea activității antifungice față de *Fusarium* sp. a unor tulpini microbiene, evidențierea efectului de biostimulare a dezvoltării plantelor de grâu de către tulpinile microbiene benefice, dar și izolarea și caracterizarea unor noi tulpini bacteriene din genul *Streptomyces* cu proprietăți anti-*Fusarium*. Șase tulpini bacteriene au fost utilizate, provenite, în principal, din colecția Facultății de Biotehnologii din cadrul USAMV București, precum și o tulpină de *Trichoderma pseudokonigii*. La acestea, s-au adăugat patru tulpini aparținând genului *Streptomyces*, izolate din sol pe parcursul cercetărilor.

S-a obținut eficacitatea a două tulpini de *B. amyloliquefaciens* și a tulpina de *T. pseudokonigii* Td85 în inhibarea creșterii miceliene a izolatului de *F. graminearum* 183. Nu a fost observat acest potențial în cazul tulpinii *Bacillus endophyticus* 1T2. Mecanismul de acțiune al acestor tulpini a fost evidențiat la nivelul hifelor miceliene ale patogenului test, care prezentau modificări specifice. În cazul izolatului *Trichoderma pseudokonigii* Td85 examenul microscopic a certificat și mecanismul de micoparazitism. Toate tulpinile de *B. amyloliquefaciens* testate au fost eficiente și în inhibarea creșterii miceliene a tulpinilor de *Fusarium* sp. izolate în timpul cercetărilor, cu eficacități cuprinse între 61,9% și 84,4%, cea mai mare eficacitate fiind înregistrată la tulpina BPA.

În scopul testării potențialului antagonist, 60 de noi tulpini bacteriene din genul *Streptomyces* au fost izolate din sol și compost, peste 78% având acțiune inhibitoare asupra unor izolate patogene: *Alternaria* spp., *F. graminearum*, *F. culmorum*, *R. solani*, *F. oxysporum* și *S. bataticola*. Patru izolate (SS16, S15, Str S1 și Str S4) au fost caracterizate ca fiind eficace față de toți patogenii test, evidențiindu-se mecanismul de acțiune: liza hifelor (datorită acțiunii unui complex de enzime litice) și micoparazitismul. Cele patru tulpini de *Streptomyces* sp. au avut capacitatea de a produce amilaze, proteaze, CMC-aze, chitinaze și lipaze și de a solubiliza fosfatul.

În ceea ce privește procesul de germinare, s-a remarcat că majoritatea tratamentelor cu microorganisme aplicate semințelor de grâu au determinat o întârziere a germinării comparativ cu martorul netratat. Excepție au făcut tulpinile *A. brassilense* Sp7 și *B. amyloliquefaciens* BW care au grăbit procesul de germinare cu o zi. Toate microorganismele aplicate au stimulat creșterea lăstarilor și rădăcinilor în lungime, cantitatea de biomasă, atât ca greutate proaspătă, cât și ca greutate uscată. Ambii indici de vigoare a semințelor au fost îmbunătățiți la aplicarea tratamentelor microbiene. Rezultatele cele mai bune din punct de vedere practic au fost obținute cu tulpinile *A. brassilense* Sp7 și *B. amyloliquefaciens* BW, care au determinat o creștere a vigorii semințelor de peste 50%, ceea ce reprezintă o creștere a productivității și a calității producțiilor obținute.

În privința aspectelor de noutate, în cadrul tezei au fost identificate prin metode microbiologice și moleculare o serie de tulpini de fungi filamentoși din genul *Fusarium*, izolate de pe materialul vegetal, similare speciilor *F. crookwellense*, *F. chlamydosporium* sau *F. tricinctum*, alături de *F. graminearum* și *F. culmorum*, ceea ce sugerează o modificare a tipurilor de specii de *Fusarium* ce contaminează de regulă grâul din România, posibil datorită condițiilor climatice din ultimii ani. De asemenea, în urma experimentelor, au fost selectate patru tulpini bacterien din genul *Streptomyces* sp. Cu activitate antifungică pronunțată, dintre care, două, respectiv tulpinile SS16 și Str S4 sunt capabile nu numai să inhibe dezvoltarea fungilor țintă, ci determină și o reducere a nivelului ZEA produsă de fungii micotoxigeni.

Pentru prevenirea contaminării recoltelor de grâu cu micotoxine, se recomandă pe lângă ameliorarea genetică a soiurilor de grâu privind rezistența la atacul agenților patogeni, o serie de alte măsuri integrate, care cuprind tehnologiile agricole prin verigile tehnologice de cultură, aplicarea de fungicide, controlul molecular și controlul biologic.