

GESTIONAREA RISCURILOR CONTAMINĂRII GRÂULUI CU FUSARIOTOXINE ÎN TIMPUL VEGETAȚIEI

Partener 4 – U.S.A.M.V. București
Responsabil proiect – Dr. Irina Grebenișan
20.martie.2009

- **ETAPA III - CORECTAREA MODELELOR EXPERIMENTALE**

- **Activitate AIII.5. Producerea de bioetanol si biopesticide din grau contaminat cu fusariotoxine**

- **AIII.5.6.:** Evaluarea eficacității tulpinilor de drojdii antagoniste față de tulpini de *Fusarium* cu rezistenta la fusariotoxine

EVALUAREA ANTAGONISMULUI DINTRE MICROORGANISME

- Testarea activității antagoniste levuri – fungi fitopatogeni s-a realizat prin metoda MANKA & MANKA.
- Această metodă de evaluare a antagonismului dintre microorganisme presupune inocularea tulpinilor supuse testării în poziții juxtapuse la 2 cm distanță în vase Petri ce conțin mediu agarizat.
- Inoculul este aplicat în formă de discuri de cultură pe mediu agarizat, de 5 mm diametru, cu miceliul răsucit în jos, sau suspensie de spori (10 μ l pe rondela de hârtie de filtru sterilă).
- Tulpinile de levuri au fost inoculate fie în același timp cu tulpinile fungice, fie după 24 de ore.

TULPINILE DE FUNGI FILAMENTOȘI UTILIZATE ÎN EXPERIMENTE

Nr. crt.	Tulpina	Notația de lab.	Poveniența
1.	<i>Fusarium sp.</i>	F ₁	Colectie culturi lab. Științele Mediului - Microbiologie USAMV București (grâu)
2.	<i>Fusarium sp.</i>	F ₂	Colectie culturi lab. Științele Mediului - Microbiologie USAMV București (grâu)
3.	<i>Fusarium sp.</i>	F ₃	Colectie culturi lab. Științele Mediului - Microbiologie USAMV București (grâu)
4.	<i>Fusarium sp.</i>	F ₄	Colectie culturi lab. Științele Mediului - Microbiologie USAMV București (grâu)
5.	<i>Fusarium sp.</i>	F ₅	Colectie culturi lab. Științele Mediului - Microbiologie USAMV București (grâu)
6.	<i>Fusarium sp.</i>	F ₆	Colectie culturi lab. Științele Mediului - Microbiologie USAMV București (grâu)
7.	<i>Fusarium sp.</i>	F ₇	Colectie culturi lab. Științele Mediului - Microbiologie USAMV București (grâu)

ASPECTE ALE SIMPTOMELOR DE BOALA PRODUSE DE FUNGII FILAMENTOȘI



Fig. 1
Spice de grâu
cu atac de Fusarium sp.



Fig. 2
Izolarea în cultură pură a fungilor
fitopatogeni de pe grâu

TULPINI DE LEVURI UTILIZATE ÎN EXPERIMENTE

Nr. Crt.	Microorganismele	Notația de laborator	Proveniența
1.	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	L ₂₈ (SG ₂)	USAMV - Dr. Irina Grebenisan
2.	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	L ₂₉ (SG1)	USAMV - Dr. Irina Grebenisan

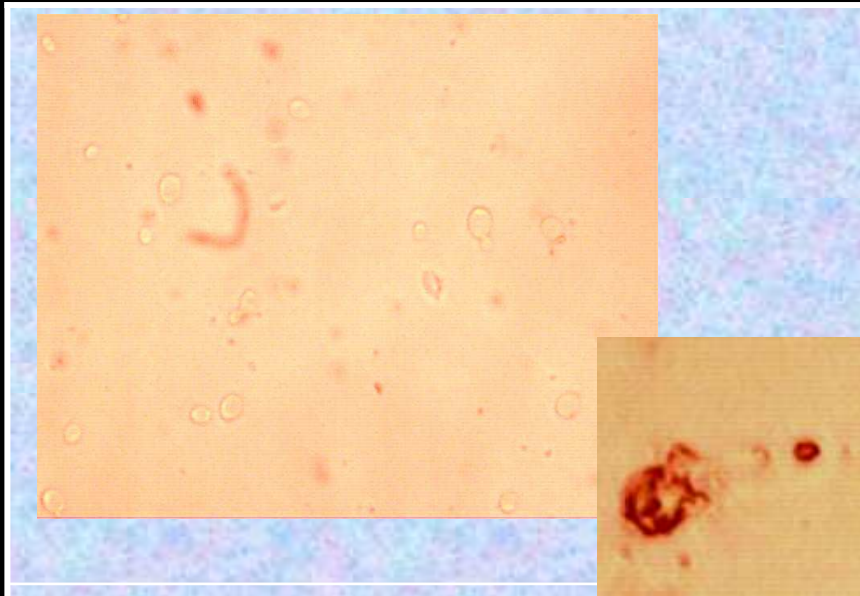


Fig. 3

Metschnikowia pulcherrima L28 (400 x):
Celule vegetative și ască cu ascospor

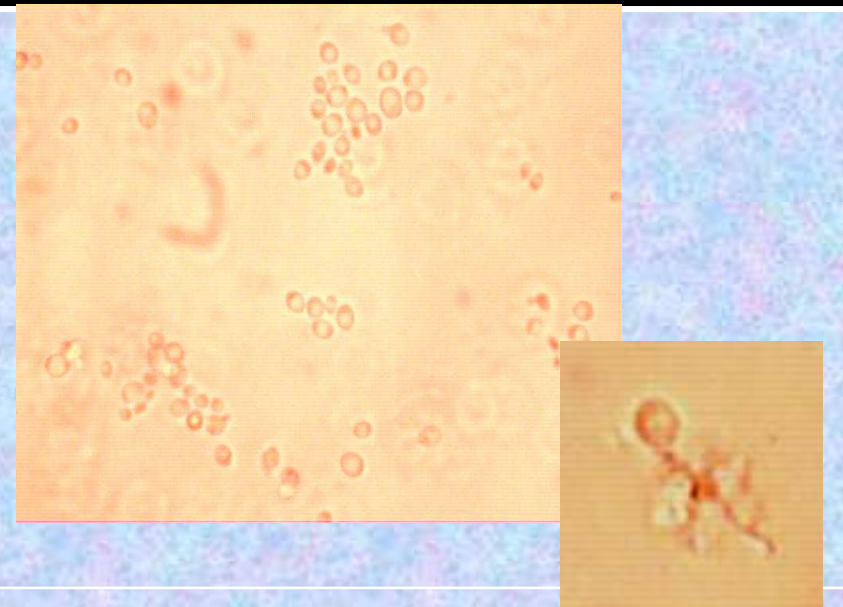


Fig. 4

Metschnikowia pulcherrima L29 (400 x)
Celule vegetative și ască cu ascospor

MUTAGENEZA FIZICĂ

Acțiunea radiațiilor UV asupra tulpiniilor L_{28} și L_{29}

Timpul de iradiere (secunde)	CFU/ml		Viabilitatea (%)	
	L28	L29	L28	L29
0	$1,73 \times 10^5$	3×10^5	100	100
30	$1,16 \times 10^5$	$1,64 \times 10^5$	67	55
60	$1,12 \times 10^5$	$1,60 \times 10^5$	64	53

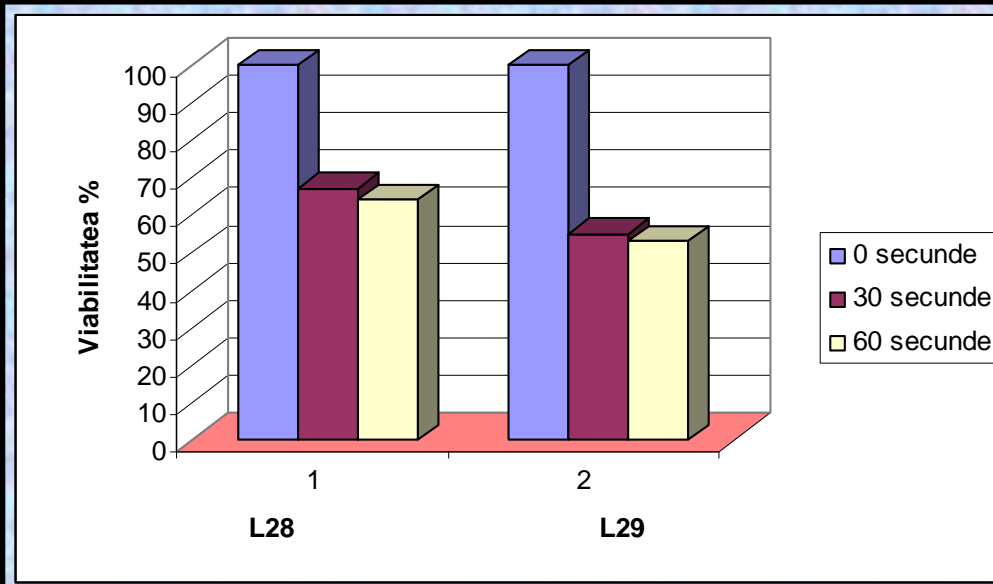


Fig. 5 Viabilitatea celulelor de levuri *Metschnikowia pulcherrima* L_{28} și L_{29}

ASPECTE ALE INTERACȚIUNII IN VITRO ȘI EVALUAREA POTENȚIALULUI ANTIFUNGIC



Fig. 6

*Interacțiunea dintre M. pulcherrima
L28 și Fusarium sp. F1 (10 zile)*



Fig. 7

*Interacțiunea dintre M. pulcherrima
L29 și Fusarium sp. F1 (10 zile)*

Nr. crt.	Microorganism antagoniste	<i>Fusarium sp.</i> φ coloniilor (mm)			Punctaj (scala Manka)
		5 zile	10 zile	martor	
1.	L28 <i>Metschnikowia pulcherrima</i>	24,2	78,7	90,0	+4
2.	L29 <i>M. pulcherrima</i>	20,7	30,0	90,0	+14

INTERACȚIA DINTRE TULPINILE DE LEVURI ȘI FUNGII FILAMENTOȘI DIN GENUL FUSARIUM

Nr. crt.	Tulpini de levuri	Tulpini fungice – Fusarium sp.					
		F2	F3	F4	F5	F6	F7
1.	<i>Metschnikowia pulcherrima</i> (L28)	++++	++++	++++	++++	++++	++++
2.	<i>Metschnikowia pulcherrima</i> (L29)	++++	++++	++++	++++	++++	++++

- = nu inhibă deloc; + = inhibă foarte puțin; ++ = inhibă moderat; +++ = inhibă bine; ++++ = inhibă foarte bine

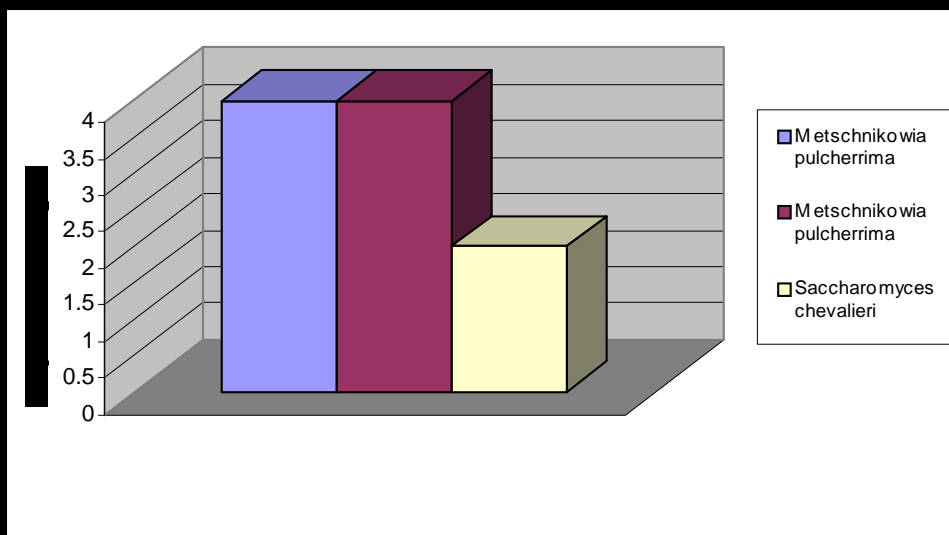


Fig. 8 Activitatea inhibitoare a tulpinilor de levuri testate față de fitopatogeni din genul *Fusarium*

EFICACITATEA INTERACȚIUNII ANTIFUNGICE IN VITRO

Nr. crt.	Microorganisme antagoniste	<i>Fusarium</i> sp.F1 Punctaj (scala Manka)	<i>Fusarium</i> sp.F1 Eficacitate (%)
1.	L28 <i>Metschnikowia pulcherrima</i>	+4	12
2.	L29 <i>M. pulcherrima</i>	+14	67

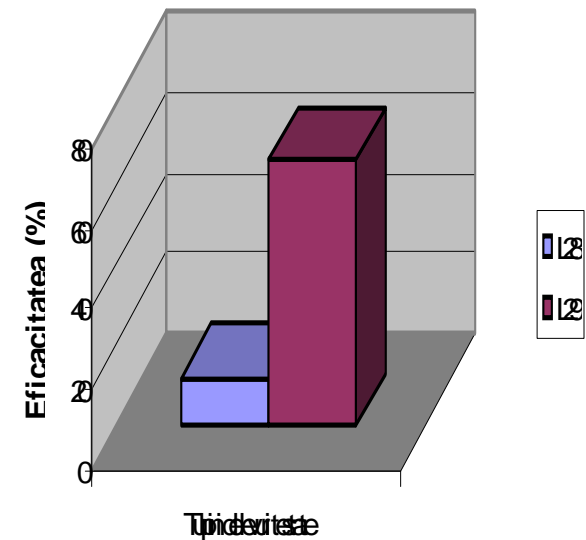


Fig. 9
Acțiunea inhibitoare a tulpinilor microbiene testate

$E (\%) = (\phi \text{ martor} - \phi \text{ interacțiune}) / \phi \text{ martor} \times 100$

unde: $E(\%)$ = eficacitatea (%)

ϕ martor = diametrul coloniilor martor (mm)

ϕ interacțiune = diametrul coloniei patogenului în urma interacțiunii cu antagonistul (mm)

Nr. crt.	Levuri antagoniste	Diametrul (mm) coloniilor de <i>Fusarium</i> sp. (10 zile)							E (%)
		F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇	M	
1.	L ₂₈	12	11	10	12	11	10	60	81,3
2.	L ₂₉	10	12	12	10	11	11	60	82

CONCLUZII

- Rezultatele experimentelor realizate în această etapă de evaluare a eficacității tulpinilor de levuri antagoniste față de tulpinile de *Fusarium* ne permit formularea următoarelor concluzii:
- tulpinile de levuri din specia *Metschnikowia pulcherrima* L28 și L29 au manifestat un efect antifungic puternic față de tulpinile de fungi din genul *Fusarium* sp. F2, F3, F4, F5, F6, F7, eficacitatea *in vitro* fiind între 81 % și 82 %;
- capacitatea tulpinilor de levuri din specia *Metschnikowia pulcherrima* L28 și L29 de a inhiba creșterea și dezvoltarea tulpinii de *Fusarium* sp. F1 a fost de 12% și respectiv 67;