



MD 1835 Y 2025.04.30

## REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1835** (13) **Y**  
(51) Int.Cl: *C12N 1/14* (2006.01)  
*C12R 1/885* (2006.01)  
*A01N 63/38* (2020.01)  
*A01P 3/00* (2006.01)  
*A01P 21/00* (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE  
DE SCURTĂ DURATĂ**

În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție de scurtă durată, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: s 2024 0057 (22) Data depozit: 2024.06.06	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2025.04.30, BOPI nr. 4/2025
(71) Solicitant: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA TEHNICĂ A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: ȘÎRBU Tamara, MD; MOLDOVAN Cristina, MD; ȚURCAN Olga, MD; BÎRSA Maxim, MD (73) Titular: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA TEHNICĂ A MOLDOVEI, MD	

(54) **Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de fungi *Trichoderma longibrachiatum* CNMN-FD-27**

(57) **Rezumat:**

Invenția se referă la microbiologie și biotehnologie, în particular un mediu de cultivare a tulpinii de fungi *Trichoderma longibrachiatum*, ce posedă proprietăți antimicrobiene și fitostimulatoare și poate fi utilizată în agricultură pentru protecția biologică și pentru stimularea plantelor de cultură.

Mediul nutritiv pentru cultivarea tulpinii de fungi *Trichoderma longibrachiatum* CNMN-FD-27, conform invenției, conține, g/L: sirop de porumb 20,0, glucoză 10,0,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,0,  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  1,0,  $\text{NaNO}_3$  1,0,  $\text{CaCO}_3$  1,0, apă restul, cu pH 6,0-6,2.

Rezultatul tehnic al invenției constă în reducerea duratei de cultivare a tulpinii și obținerea unui biopreparat cu proprietăți antifungice și stimulative mai pronunțate.

Revendicări: 1

MD 1835 Y 2025.04.30

**Descriere:**

Invenția se referă la microbiologie și biotehnologie, în particular un mediu de cultivare a tulpinii de fungi *Trichoderma longibrachiatum*, ce posedă proprietăți antimicrobiene și fitostimulatoare și poate fi utilizată în agricultură pentru protecția biologică și pentru stimularea plantelor de cultură.

Este cunoscut mediul nutritiv de cultivare submersă a tulpinii de fungi *Trichoderma* sp. MI-97, producătoare de trihodermin, care conține, g/L: zaharoză 25,4; extract de porumb 31,8;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3,14;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  0,6; apă restul [1]. Cultivarea se efectuează pe mediul solid timp de 15 zile la temperatura de 28°C, apoi pelicula micelială obținută se usucă și se mărunțește până la forma de praf.

Dezavantajul acestui mediu constă în conținutul de zaharoză, prețul căreia este înalt, perioada îndelungată de cultivare a tulpinii, numărul impunător de etape pentru obținerea preparatului și forma acestuia (praf), care este greu de utilizat.

Este cunoscut mediul nutritiv de cultivare submersă a tulpinii de fungi *Trichoderma virens* CNMN-FD-13, ce posedă proprietăți antifungice față de un spectru mai larg de fitopatogeni, care conține, g/L: sirop de glucoză 20,0; zaharoză 10,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,0;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  1,0;  $\text{NaNO}_3$  1,0; extract de drojdii 10,0;  $\text{CaCO}_3$  2,0; apă restul; pH 5,5-6,0, cultivarea timp de 5 zile la temperatura de 28-30°C cu agitare continuă [2].

Dezavantajul acestui mediu nutritiv constă în componența acestuia ce conține sirop de glucoză, extract de drojdii și zaharoză, care sunt costisitoare și durata lungă de cultivare a tulpinii.

În calitate de soluție proximă s-a utilizat mediul nutritiv pentru cultivarea tulpinii de fungi *Trichoderma lignorum* CNMN-FD-14, ce posedă proprietăți antifungice și fitostimulatoare, care conține, g/L: melasă de sfeclă 20,0; zaharoză 10,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2,0;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  1,0;  $\text{NaNO}_3$  2,0;  $\text{CaCO}_3$  2,0; apă restul; pH 5,5 - 6,0 [3].

Biopreparatul obținut la cultivarea submersă a tulpinii *Trichoderma longibrachiatum* CNMN-FD-27 pe mediul menționat, la temperatura de 28-30°C, în condiții de agitare continuă, manifestă cea mai înaltă activitate antifungică după 4 zile de cultivare față de *Fusarium sporotrichiella* și *Botrytis cinerea*, diametrul zonei de inhibiție constituind respectiv 27,0 mm și 40,3 mm, iar față de *Sclerotinia sclerotiorum* și *Alternaria alternata* după 6 zile de cultivare. De asemenea, biopreparatul stimulează creșterea plantulelor de floarea soarelui.

Dezavantajul soluției proximale constă în prețul înalt al mediului, ce conține zaharoză, melasă, o cantitate mare de săruri minerale, dar și durata lungă de cultivare de 4-6 zile.

Problema tehnică pe care o rezolvă prezenta invenție constă în micșorarea duratei de cultivare a tulpinii *Trichoderma longibrachiatum* CNMN-FD-27, obținerea unui biopreparat cu proprietăți antifungice și fitostimulatoare sporite, ieftin, cu componente accesibile, săruri minerale în cantități mici.

Problema se rezolvă prin mediul nutritiv pentru cultivarea tulpinii de fungi *Trichoderma longibrachiatum* CNMN-FD-27, care conține, g/L: sirop de porumb 20,0, glucoză 10,0,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,0,  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  1,0,  $\text{NaNO}_3$  1,0,  $\text{CaCO}_3$  1,0, apă restul, cu pH 6,0-6,2.

Pe mediul nutritiv optimizat propus tulpina de fungi *Trichoderma longibrachiatum* CNMN-FD-27 manifestă cea mai înaltă activitate antifungică după 4 zile de cultivare.

Rezultatul tehnic al invenției constă în reducerea duratei de cultivare a tulpinii, obținerea unui biopreparat cu proprietăți antifungice și stimulative mai pronunțate față de soluția proximă și reducerea prețului mediului nutritiv de 2-3 ori.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1

Tulpina *Trichoderma longibrachiatum* CNMN-FD-27 s-a cultivat în baloane Erlenmeyer de 0,5 L în care s-au introdus 100 mL de mediu nutritiv, g/L: melasă de sfeclă 20,0; zaharoză 10,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2,0;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  1,0;  $\text{NaNO}_3$  2,0;  $\text{CaCO}_3$  2,0; apă restul; pH 5,5 - 6,0 și paralel în baloane de 0,5 L cu 100 mL de mediu nutritiv, g/L: sirop de porumb 20,0; glucoză 10,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,0;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  1,0;  $\text{NaNO}_3$  1,0;  $\text{CaCO}_3$  1,0; apă până la 1 litru; pH 6,0-6,2 în condiții de agitare continuă (180 rpm) la temperatura de 28-30°C, timp de 6 zile. Biopreparatul reprezintă lichidul cultural obținut la separarea mediului de cultivare de biomasă prin filtrare. Culturile fitopatogene au fost însămânțate în cutii Petri pe mediul malț-agar. La mijlocul cutiei s-au făcut godeuri de 0,8 mm în care s-au introdus câte 0,1 mL de biopreparat. Difuzia biopreparatului s-a produs la temperatura de 4°C timp de 24 de ore, după care cutiile au fost amplasate în termostat, la temperatura de 28-30°C, pentru incubare. Peste 4 zile de la incubare s-au efectuat măsurările zonei de inhibiție a fungilor fitopatogeni.

Tabelul 1

Activitatea antifungică a biopreparatului în dependență de durata de cultivare a tulpinii *Trichoderma longibrachiatum* CNMN-FD-27

5

Test culturile	Durata de cultivare, zile Diametrul zonei de inhibiție, mm							
	Mediul proxim				Mediul optimizat			
	3	4	5	6	3	4	5	6
<i>Alternaria alternata</i>	27,3 ± 2,8	26,7 ± 1,7	25,3 ± 0,7	28,0 ± 2,3	28,3 ± 1,7	36,0 ± 2,0	25,0 ± 3,4	18,0 ± 2,3
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	30,7 ± 1,3	28,0 ± 2,0	30,7 ± 3,5	34,7 ± 3,5	31,0 ± 4,1	32,3 ± 2,8	31,7 ± 2,3	30,7 ± 1,3
<i>Fusarium sporotrichiella</i>	26,0 ± 2,0	27,0 ± 2,0	24,4 ± 2,4	22,0 ± 2,3	26,7 ± 3,3	27,7 ± 2,8	21,3 ± 1,3	18,7 ± 1,7
<i>Botrytis cinerea</i>	38,7 ± 1,3	40,3 ± 0,7	34,3 ± 1,3	38,3 ± 3,3	40,0 ± 1,1	41,7 ± 0,7	27,7 ± 2,8	25,3 ± 0,7

Maximul activității antifungice a biopreparatului față de *Fusarium sporotrichiella* și *Botrytis cinerea* a fost obținut pe mediul proxim după 4 zile de cultivare (diametrul zonei de inhibiție – 27,0 mm, respectiv 40,3 mm), iar față de *Alternaria alternata* și *Sclerotinia sclerotiorum* după 6 zile de cultivare (diametrul zonei – 28 mm, respectiv 34,7 mm).

10

Biopreparatul obținut la cultivarea tulpinii *Trichoderma longibrachiatum* CNMN-FD-27 pe mediul propus a demonstrat activitatea maximă față de toți fitopatogenii testați după 4 zile de cultivare (diametrul zonelor de inhibiție variază în limitele 27,7- 41,7 mm).

15

Astfel, durata de cultivare a tulpinii *T. longibrachiatum* CNMN-FD-27 pe mediul propus pentru obținerea biopreparatului cu activitate antifungică înaltă față de toți fitopatogenii testați este cu 2 zile mai mică față de activitatea biopreparatului obținut pe mediul proxim.

#### Exemplul 2

Semințele de floarea soarelui au fost tratate cu biopreparatele obținute (pe mediul proxim și pe mediul propus) timp de 1 oră, apoi introduse în sol și cultivate. După 14 zile de cultivare la temperatura camerei de 20-22°C au fost determinați indicii: lungimea plantulei, masa a 100 de plantule, masa rădăcinilor la 100 de plantule.

20

Tabelul 2

Activitatea stimuloare a biopreparatului la floarea soarelui în dependență de mediul de cultivare a tulpinii *Trichoderma longibrachiatum* CNMN-FD-27

25

Indicii corporali	Tratarea semințelor cu biopreparat proxim	Tratarea semințelor cu biopreparat optimizat
Lungimea plantulei, cm	18,0± 0,3	19,3 ± 0,28
Masa a 100 de plantule, gr	124,2±4,5	148,6±3,2
Masa rădăcinilor la 100 de plantule, gr	22,4±0,4	24,8±0,45

Masa a 100 de plantule și masa rădăcinilor la 100 de plantule de floarea soarelui sub influența biopreparatului obținut pe mediul optimizat a sporit cu 20,0% și respectiv 10,7%, iar lungimea plantulelor cu 7,2% față de preparatul obținut pe mediul proxim.

**(56) Referințe bibliografice citate în descriere:**

1. RU 2171580 C1 2001.08.10
2. MD 4249 B1 2013.08.31
3. MD 4251 B1 2013.09.30

**(57) Revendicări:**

Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de fungi *Trichoderma longibrachiatum* CNMN-FD-27, care conține, g/L: sirop de porumb 20,0, glucoză 10,0,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,0,  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  1,0,  $\text{NaNO}_3$  1,0,  $\text{CaCO}_3$  1,0, apă restul, cu pH 6,0-6,2.

**RAPORT DE DOCUMENTARE**

I. Datele de identificare a cererii		
(21) Nr. depozit: s 2024 0057		
(22) Data depozit: 2024.06.06		
(71) Solicitant: <b>INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA TEHNICĂ A MOLDOVEI, MD</b>		
(54) Titlu: <b>Mediul nutritiv de cultivare a tulpinii fungice <i>Trichoderma longibrachiatum</i> CNMN-FD-27</b>		
II. Clasificarea obiectului invenției:		
(51) <b>Int.Cl:</b> <i>C12N 1/14</i> (2006.01) <i>A01P 3/00</i> (2006.01) <i>C12R 1/885</i> (2006.01) <i>A01P 21/00</i> (2006.01) <i>A01N 63/38</i> (2020.01)		
III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)		
<b>MD - Intern « Documentare Invenții »</b> (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stânga/dreapta): C12N 1/14, C12R 1/885, A01N 63/38, A01P 3/00, A01P 21/00 Trichoderma longibrachiatum, mediu		
<b>EA, SU (Eapatis):</b> C12N1/14, C12R1/885, A01N63/38, A01P3/00, A01P21/00 Trichoderma longibrachiatum, среда		
IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate		
www.google.com		
V. Documente considerate a fi relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A, D	RU 2171580 C1 2001.08.10	1
A, D	MD 4249 B1 2013.08.31	1
A, D, C	MD 4251 B1 2013.09.30	1
A	MD 4445 B1 2016.11.30	1
A	MD 4654 B1 2019.10.31	1
A	RU 2195490 C2 2002.12.27	1
A	RU 2287571 C2 2006.11.20	1
A	RU 2303065 C1 2007.07.20	1
* categoriile speciale ale documentelor citate:		

<b>A</b> – document care definește stadiul anterior general	<b>T</b> – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidența principiul sau teoria pe care se bazează invenția
<b>X</b> – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	<b>E</b> – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată
<b>Y</b> – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	<b>D</b> – document menționat în descrierea cererii de brevet
<b>O</b> - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	<b>C</b> – document considerat ca cea mai apropiată soluție
	<b>&amp;</b> – document, care face parte din aceeași familie de brevete
<b>P</b> - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	<b>L</b> – document citat cu alte scopuri
Data finalizării documentării, 15.01.2025	
Consultantă principală,      GUȘAN Ala	<div style="border: 1px dashed black; padding: 5px; display: inline-block;"> Document semnat digital </div>