CZU:582.288.45+576.8 https://doi.org/10.53040/ppap2023.39

INFLUENŢA DERIVAŢILOR VINIL-TRIAZOLICI ASUPRA CREȘTERII FUNGULUI *Fusarium avenaceum* (FR.) SACC.

LUPAȘCU Galina[1*], GAVZER Svetlana [1**], CRISTEA N. [1***], LUPAȘCU L.[2#], STÎNGACI E. [2##], ZVEAGHINȚEVA M. [2###], POGREBNOI S. [2&], MACAEV F[2&&]

[1]*Institutul de Genetică, Fiziologie şi Protecţie a Plantelor al USM, Chişinău, Republica Moldova*

[2]*Institutul de Chimie al USM, Chişinău, Republica Moldova*

**https://orcid.org/0000-0003-3363-3595,*

***https://orcid.org/0000-0001-9435-1159,*

**https://orcid.org/0009-0008-7259-3884,*

#https://orcid.org/0000-0001-5006-5265,

##https://orcid.org/0000-0003-0731-3424,

###https://orcid.org/0000-0003-1553-5246,

https://orcid.org/0000-0003-2827-505X ,

&& https://orcid.org/ 0000-0002-3094-1990,

e-mail: galinalupascu51@gmail.com

Summary. Testing of the fungus *Fusarium avenaceum* growth on nutrient medium (PDA) supplemented with the new vinyl-triazole derivatives in concentrations of 0.00125% - 0.01% demonstrated their high capacity to inhibit the pathogen, which offers chances of their use in the protection measures of common winter wheat.

Keywords: *wheat, Fusarium avenaceum, growth, vinyl-triazole derivatives.*

Introducere. În complexul fungic care produce putregaiul de rădăcină la grâul comun de toamnă (*Triticum aestivum* L.) în condiţiile Republicii Moldova, recent a crescut considerabil incidenţa ciupercii *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. care a atins rata de 11,4% [4]. Ciuperca *F. avenaceum,* descrisă pentru prima dată în anul 1886, este una din cele mai răspândite specii patogene la plante, frecvent implicată în putregaiul rădăcinii, tulpinii, fructelor, căderea plantelor [5, 7], producând pierderi economice enorme culturilor agricole. De rând cu pierderile economice directe, pentru cultivatorii de cereale, în special a grâului, fungul mai prezintă o îngrijorare din perspectiva siguranței alimentare deoarece acesta, paralel cu alte 4 ciuperci – *F. graminearum, F. culmorum, F.*

tricinctum, F. poae este un producător activ de micotoxine în boabe, cum ar fi moniliformina, eniatinele, bovericina, etc. care afectează grav sănătatea omului și animalelor [2, 6, 8].

În legătura cu înalta adaptibilitate a fungilor patogeni la preparatele utilizate în măsurile de protecție a plantelor, scopul prezentelor cercetări a constat în cercetarea capacității antifungice a noilor derivați vinil-triazolici din perspectiva identificării și lărgirii spectrului compușilor eficienți împotriva fungului menționat.

Material şi metode. Izolarea fungului s-a efectuat în condiţii aseptice pe mediu PDA (*Potatoes Dextrosis Agar*) [9], fiind identificat ulterior ca *F. avenaceum* în baza caracteristicelor macro- şi microscopice conform determinatorului Barnett, Hunter [1].

Testarea activităţii antifungice a derivaţilor vinil-triazolici MF-30-1 (EPS-869), MF-30-2 (EPS-877), MF-30-3 (EPS-880), MF-30-4 (EPS-892), MF-30-5 (EPS-165) s-a efectuat prin suplimentarea acestora în mediul nutritiv în concentrațiile 0,01; 0,005; 0,0025; 0,00125%. Fungul a fost însămânțat pe mediul sterilizat, solidificat în centrul cutiei Petri și menținut în termostat la temperatura de 24°C. Înregistrarea diametrului coloniilor (câte 2 diametre perpendiculare, media cărora a servit ca indice biometric) s-a efectuat din ziua 3 de la însămânțare. Experiența s-a efectuat în 4 repetiții. Datele au fost prelucrate statistic în pachetul de soft STATISTICA 7.

Rezultate şi discuţii. Datele obţinute, au demonstrat o deosebire pronunţată între diametrul coloniilor *F. avenaceum* în varianta martor şi în variantele cu compuşii MF-30-1, MF-30-2, MF-30-3, MF-30-4, MF-30-5. De exemplu la ziua 3 de creştere, în concentraţia maximă – 0,01% preparatele MF-30-1, MF-30-2, MF-30-3, MF-30-4, MF-30-5 au inhibat creşterea tulpinii de *F. avenaceum* cu 90,53%, 78,41%, 84,48%, 84,0%, 70,4% în raport cu martorul (tab. 1).

Paralel cu micşorarea concentraţiilor, s-a diminuat şi puterea de inhibare a creşterii coloniilor, însă chiar şi la cea mai mică concentraţie (0,00125%), deosebirea de martor s-a menţinut destul de înaltă. Astfel, diametrul coloniilor la aplicarea compușilor MF-30-1 (EPS-869), MF-30-2 (EPS-877), MF-30-3

Tabelul 1. Influenţa derivaţilor vinil triazolici asupra creşterii fungului *F. avenaceum*

Variantă	Concen-traţie, %	Ziua 3		Ziua 4		Ziua 5	
		Diametrul coloniei, mm	% din mar-tor	Diametrul coloniei, mm	% din mar-tor	Diametrul coloniei, mm	% din mar-tor
Martor	-	51,6±1,6	-	79,4±1,6	-	90,0±00	-
MF-30-1 I	0,01%	4,9±0,8*	9,5	6,5±1,2*	8,2	11,3±2,8*	12,5
	0,005	8,4±1,7*	16,3	12,8±1,8*	16,1	18,5±2,0*	20,6
	0,0025	8,0±0,2*	15,5	13,1±1,9*	16,5	16,4±4,2*	18,2
	0,00125	11,0±1,0*	21,4	14,3±1,5*	17,9	15,8±1,8*	17,5
MF-30-2 II	0,01%	11,1±1,9*	21,6	13,1±1,6*	16,5	14,6±1,4*	16,3
	0,005	15,6±2,0*	30,3	18,6±1,8*	23,5	22,5±2,1*	25,0
	0,0025	14,0±1,9*	27,2	18,4±1,7*	23,2	22,3±1,8*	24,7
	0,00125	14,5±0,9*	28,1	18,0±1,8*	22,7	20,4±1,5*	22,6
MF-30-3 III	0,01%	8,0±0,7*	15,5	8,0±0,7*	10,1	19,6±0,4*	21,8
	0,005	9,8±0,9*	18,9	9,5±0,7*	12,0	19,3±1,3*	21,4
	0,0025	13,0±0,9*	25,2	13,0±0,9*	16,4	24,8±1,3*	27,5
	0,00125	15,0±1,2*	29,1	15,0±1,2*	18,9	28,1±1,6*	31,3
MF-30-4 IV	0,01%	8,3±0,7*	16,0	12,9±1,6*	16,2	18,4±1,0*	20,4
	0,005	10,6±0,4*	20,6	17,9±0,7*	22,5	22,4±0,1*	24,9
	0,0025	13,1±2,0*	25,5	22,0±2,0*	27,7	29,0±1,7*	32,2
	0,00125	15,6±1,5*	30,3	24,0±0,9*	30,2	31,9±0,2*	35,4
MF-30-5 V	0,01%	15,25±1,6*	29,6	24,4±1,8*	30,7	36,1±2,5*	40,1
	0,005	20,38±0,4*	39,5	34,5±0,6*	43,5	50,4±0,2*	56,0
	0,0025	26,75±1,2*	51,9	47,3±1,1*	59,5	68,0±1,4*	75,6
	0,00125	32,75±1,6*	63,5	53,9±1,4*	67,9	77,5±1,6*	86,1

*- diferenţă de martor statistic semnificativă, $p<0,05$.

(EPS-880), MF-30-4 (EPS-892), MF-30-5 (EPS-165) în concentraţia menţionată a constituit 21,3; 28,1; 29,1; 30,3; 63,5% din martor. Aceeaşi tendinţă s-a păstrat şi în zilele 4 şi 5. Fiind un fung cu creştere rapidă, *F. avenaceum* în ziua 5 a acoperit toată suprafaţa mediului în varianta martor, motiv pentru care înregistrarea diametrului coloniilor a finalizat în toate variantele. Cea mai eficientă concentraţie s-a dovedit a fi 0,01%, în cazul căreia diametrul coloniilor fungului a constituit 12,5-40,1% din martor. Concentraţia

minimă – 0,00125% a demonstrat eficiență semnificativă pentru primele 4 preparate: 17,5-35,42% din martor, ceea ce relevă activitatea antifungică înaltă a derivaților vinil-triazolici pentru *F. avenaceum* şi în concentraţii mici.

Analiza factorială a relaţiilor *compus x concentraţie x activitate antifungică.* Prin analiză bifactorială a varianţei, s-a constatat că cea mai înaltă pondere în sursa de variaţie a creşterii ciupercii a revenit structurii compusului, apoi concentraţiei, iar interacţiunile *compus x concentraţie* au avut un rol mai mic (tab. 2).

Astfel, pentru ponderea structurii compusului, suma medie a pătratelor a constituit 566,85*; 2213,48*; 4615,12* (* - p<0,05), iar ponderea procentuală – 67,21; 77,19: 81,22, respectiv, zilelor 3, 4, 5. Factorul de concentraţie a înregistrat 14,94-28,77%, iar interacţiunile *compus x concentraţie* – 3,03-3,62%.

Tabelul 2. Ponderea factorială a compusului şi concentraţiei derivaţilor vinil triazolici în capacitatea de creştere a ciupercii *F. avenaceum*

Sursă de variaţie	Grad de libertate	Suma medie a pătratelor	F	p	Ponderea în sursa de variaţie a diametrului coloniei, %
Ziua 3					
Compus (structură)	4	566,85*	84,238	0,000	67,21
Concentraţie	3	242,63*	36,056	0,000	28,77
Compus x concentraţie	12	27,23*	4,047	0,000	3,23
Efecte aleatorii	60	6,73			0,80
Ziua 4					
Compus (structură)	4	2213,48*	273,691	0,000	77,19
Concentraţie	3	559,31*	69,157	0,000	19,50
Compus x concentraţie	12	86,84*	10,738	0,000	3,03
Efecte aleatorii	60	8,09			0,28
Ziua 5					
Compus (structură)	4	4615,12*	354,045	0,000	81,22
Concentraţie	3	848,67*	65,105	0,000	14,94
Compus x concentraţie	12	205,59*	15,772	0,000	3,62
Efecte aleatorii	60	13,04			0,23

*- p<0,05.

Analiza clusterianã. Precum se ştie, analiza clusterianã este o metodã statisticã sigurã de diferenţiere / clasificare a obiectelor conform similitudinii / deosebirilor în baza parametrilor cantitativi sau calitativi [3]. Pentru o clasificare mai exactã a derivaţilor vinil-triazolici, s-a aplicat analiza clusterianã prin metoda *k*-mediilor. Conform datelor obţinute, preparatele în concentraţiile respective din clusterul 3, au manifestat cea mai înaltã capacitate inhibitoare pentru *F. avenaceum* – media diametrului coloniilor fiind de 3,41; 4,41; 4,01 ori mai micã în zilele 3, 4, 5, respectiv, decât mediile clusterului 1 în care s-au localizat martorul şi MF-30-5 în concentraţiile 0,00125 şi 0,0025% (tab. 3).

Tabelul 3. Statistica descriptivã a clusterelor de derivaţi vinil triazolici în baza activităţii antifungice pentru *F. avenaceum*

Ziua	Medie, mm	Deviaţie standard	Membrii clusterelor
Clusterul 1, n = 3			
3	37,02	12,93	1 – Martor; 20, 21 – MF-30-5 (EPS-165 – analog proxim) 0,0025%, 0,00125%, respectiv.
4	60,18	16,98	
5	78,50	11,03	
Clusterul 2, n = 4			
3	16,10	3,06	16, 17 – MF-30-4 (EPS-892) 0,0025; 0,00125%, respectiv; – MF-30-5 (EPS-165 – analog proxim) 0,01; 0,005%, respectiv.
4	26,22	5,62	
5	36,85	9,49	
Clusterul 3, n = 14			
3	10,87	3,21	2, 3, 4, 5 – MF-30-1 (EPS-869) 0,01; 0,005; 0,0025; 0,00125%, respectiv; 6, 7, 8, 9 – MF-30-2 (EPS-877) 0,01; 0,005; 0,0025; 0,00125%, respectiv; 10, 11, 12, 13 – MF-30-3 (EPS-880) 0,01; 0,005; 0,0025; 0,00125%, respectiv; 14, 15 – MF-30-4 (EPS-892) 0,01; 0,005, respectiv;
4	13,65	3,81	
5	19,58	4,35	

Concluzii:

1. Testarea activităţii antifungice a unor derivaţi vinil-triazolici – MF-30-1 (EPS-869), MF-30-2 (EPS-877), MF-30-3 (EPS-880), MF-30-4 (EPS-892), MF-30-5 (EPS-165) în concentraţiile 0,00125; 0,0025; 0,005; 0,01%, în condiţii *in vitro*, a demonstrat capacitatea lor înaltă de inhibare a creşterii ciupercii *F. avenaceum*.

2. Prin analiză factorială a relaţiilor *compus x concentraţie x creştere a coloniei*, s-a constatat că ponderea factorului de *compus* (structură) a constituit 67,21-81,22%, *concentraţie* – 14,94-28,77%, interacţiune *structură x concentraţie* – 3,03-3,62%.
3. Analiza clusterianã (metoda *k*-mediilor) a demonstrat existenţa deosebirilor semnificative a derivaţilor vinil-triazolici în baza activităţii antifungice, ceea ce a determinat separarea lor clustere distincte. S-a constatat că compuşii MF-30-1, MF-30-2, MF-30-3, în concentraţiile 0,00125; 0,0025; 0,005; 0,01 % şi MF-30-4 – 0,005; 0,01% au fost deosebit de eficienţi în inhibarea creşterii ciupercii, ceea ce denotă oportunitatea utilizării lor în măsurile de protecţie a grâului împotriva ciupercii *F. avenaceum*.

Cercetările au fost efectuate în cadrul Proiectelor 20.80009.7007.04 „Biotehnologii și procedee genetice de evaluare, conservare și valorificare a agrobiodiversității”; 20.80009.5007.17 "Materiale hibride funcţionalizate cu grupări carboxil pe baza metaboliților vegetali cu acțiune contra patogenilor umani și agricoli", finanțate de Agenția Națională pentru Cercetare și Dezvoltare a Republicii Moldova (2020-2023).

Bibliografie

1. Barnett H.L., Hunter B.B. Illustrated Genera of Imperfect Fungi, Fourth Edition. APS Press, 1998, 218 p.
2. Beccari G., Senatore M.T., Tini F. et al. Fungal community, Fusarium head blight complex and secondary metabolites associated with malting barley grains harvested in Umbria, Central Italy. *Int. J. Food. Microbiol*., 2018, 20(273), p. 33–42.
3. Kaushik M., Mathur B. Comparative Study of K-Means and Hierarchical Clustering Techniques. *International Journal of Software & Hardware Research in Engineering,* 2014, 2, p. 93-98.
4. Lupașcu G., Gavzer S. Influenţa condiţiilor de mediu asupra complexului de agenţi patogeni ai putregaiului de rădăcină la grâul comun. *Buletinul AŞM.* Ştiinţele vieţii, 2021, nr. 2 (344), p. 98-103.
5. Moparthi S., Burrows M., Mgbechi-Ezeri J. et al. *Fusariums* pp. Associated With Root Rot of Pulse Crops and Their Cross-Pathogenicity to Cereal Crops in Montana. *Plant Disease,* 2021, 105, p. 548-557.

6. Ponts N., Gautier Ch., Gouzy J. et al. Evolution of *Fusarium tricinctum* and *Fusarium avenaceum* mitochondrial genomes is driven by mobility of introns and of a new type of palindromic microsatellite repeats. *BMC Genomics*, 2020, BioMed Central, 21 (1), 16 p. ⟨10.1186/s12864-020-6770-2⟩. ⟨hal-03313703⟩
7. Sørensen J.L., Phipps R.K., Nielsen K.F. et al. Analysis of Fusarium avenaceum Metabolites Produced during Wet Apple Core Rot. *J. Agric. Food Chem.*, 2009, 57, 4, p. 1632–1639.
8. Uhlig S., Jestoi M., Parikka P. *Fusarium avenaceum* – The North European situation. *Int J. Food. Microbiol*., 2007, 119, p. 17–24.
9. Методы экспериментальной микологии. Киев: Наукова думка, 1982. 550 с.