ACTIVITATEA ANTIFUNGICĂ A NOILOR DERIVAȚI VINIL-TRIAZOLICI CĂTRE *FUSARIUM CULMORUM* (W.G. SM.) SACC *IN VITRO*

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF NEW VINYL-TRIAZOLE DERIVATIVES AGAINST *FUSARIUM CULMORUM* (W.G. SM.) SACC *IN VITRO*

CZU: 547.361.2:547.79:582.288(478) **https://doi.org/10.59295/spd2024n.86**

Lucian LUPAȘCU,
ORCID: 0000-0001-5006-5265
e-mail: lucian.lupascu@sti.usm.md
Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova
Svetlana GAVZER,
ORCID: 0000-0001-9435-1159
e-mail: svetlana.gavzer@sti.usm.md
Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor,
Universitatea de Stat din Moldova
Nicolae CRISTEA,
ORCID: 0009-0008-7259-3884
e-mail: nicolae.cristea@sti.usm.md
Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor,
Universitatea de Stat din Moldova
Galina LUPAȘCU,
ORCID: 0000-0003-3363-3595
e-mail: galina.lupascu@sti.usm.md
Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor,
Universitatea de Stat din Moldova
Eugenia STÎNGACI,
ORCID: 0000-0003-0731-3424
e-mail: eugenia.stingaci@sti.usm.md
Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova
Marina ZVEAGHINȚEVA,
ORCID: 0000-0003-1553-5246
e-mail: marina.zveaghinteva@sti.usm.md
Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova
Natalia SUCMAN,
ORCID: 0000-0001-8733-3040
Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova
e-mail: natalia.sucman@sti.usm.md
Fliur MACAEV,
ORCID: 0000-0002-3094-1990
e-mail: fliur.macaev@sti.usm.md
Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova

Summary. *Objectives: identification of new compounds with antifungal activity for the phytopathogenic fungus Fusarium culmorum. Methods: the isolation of F. culmorum strains was carried out in aseptic conditions on PDA (Potatoes Dextrose Agar) medium, with the subsequent identification of the species based on macro- and microscopic characteristics. Vinyl-triazole derivatives (D.V.T): EPS-165, MZ-115, MZ-118, EPS-23 were supplemented to the nutrient medium PDA in concentrations of 0,02; 0,01; 0,005; 0,0025; 0,00125%, sterilized by autoclaving. To assess the inhibitory effect of the studied preparations, the method of recording the diameter of the growing colonies was used.* ***Results****: the inhibitory effect of the studied preparations was specific depending on the concentration and the strain of the fungus investigated. The preparation MZ-118 offers wider opportunities for use in plant protection measures against the fungus F. culmorum. The factorial analysis demonstrated that in the system F. culmorum x D.V.T. x concentration, the main source of variation in fungal growth is D.V.T concentration. (50.2 ... 64.4%), followed by the isolate factor (24.7 ... 38.9%), which denotes the differential resistance of F. culmorum isolates to the action of the compounds under study.*

Keywords: *activity, concentrations, vinyl-triazole derivatives, fungi.*
Cuvinte-cheie: *activitate, concentrații, derivați vinil-triazolici, fungi.*

INTRODUCERE

Fungul *Fusarium culmorum* (W.G. SM.) SACC are o gamă largă de plante gazdă, în principal cereale – grâu, orz, ovăz, secară, porumb, sorg și diverse ierburi. În plus, a fost izolat din sfeclă de zahăr, in, garoafă, fasole, mazăre, sparanghel, trifoi roșu, hamei, praz, molid, căpșuni și tubercul de cartofi [1], fiind frecvent asociat cu putrezirea bazei tulpinii și rădăcinii la culturile cerealiere [2]. De rând cu capacitatea de a distruge prin putrefacție diferite organe ale plantelor, *F. culmorum* este și un producător activ al micotoxinelor care poluează organismul vegetal-gazdă. Fuzarioza spicelor, cunoscută în literatura științifică ca FHD – *Fusarium Head Blight*, este provocată de diverse specii Fusarium. FHB este cauzat de *F. culmorum* în Idaho, North (SUA), fiind totuși mai prevalent în Europa, Africa, Canada și în unele regiuni ale Chinei [3]. Principalele micotoxine produse de *F. culmorum* sunt deoxinivalenolul, nivalenonul și zearalenonul, care reprezintă un pericol potențial pentru sănătatea oamenilor și animalelor. Opțiunile de management al protecției plantelor pe termen scurt includ utilizarea fungicidelor, biocontrolul și practicile culturale, utilizarea genotipurilor rezistente fiind cele mai promițătoare opțiuni pe termen lung. Preocuparea principală este de a preveni introducerea și înființarea speciilor de Fusarium în zonele în care anterior nu s-au constatat, de a reduce inoculul disponibil pentru dispersare, a preveni răspândirea acestuia pentru a nu fi implicat în viitoarele crize de siguranță alimentară [4]. Întrucât speciile Fusarium, ca și multe alte micromicete, ușor se adaptează la preparatele chimice utilizate în măsurile de protecție a plantelor, sunt deosebit de actuale cercetările cu privire la identificarea noilor compuși cu activitate antifungică, ceea ce a și prezentat scopul cercetărilor.

MATERIALE ȘI METODE

Izolarea tulpinilor *F. culmorum* (*F.c*.5, *F.c*.19, *F.c*.20) s-a efectuat din plante de grâu comun de toamnă cu semne de putrezire a bazei tulpinii, în condiții aseptice pe mediu PDA (*Potatoes Dextrosis Agar*) [5] – unul din cele mai optime pentru izolarea, cultivarea și cercetarea caracterelor morfo-culturale ale fungilor *Fusarium* spp. Fragmentele de țesut vegetal au fost aseptizate în soluție de hipoclorură de var de 2% timp de 1-2 min, după care s-au clătit de 2-3 ori în apă distilată și plasat pe mediu în preajma flăcării de gaz. Identificarea patogenului s-a efectuat pe baza caracteristicelor macro- şi microscopice conform determinatoarelor micologice [6].

Caracterele de cultură ale izolatelor *Fusarium* spp. pe mediul PDA tind să fie similare în cadrul aceleiași specii. Cu toate acestea, unele specii prezintă rată de creștere, fenotipuri și pigmentare diferite datorită diversității lor intraspecifice [6]. Coloniile de *F. culmorum* cresc rapid (1,6-2,2 cm/zi) pe mediul PDA la temperatura optimă de 25°C. Miceliul este filamentos-ramificat, albicios, galben deschis sau roșu. Pigmentul plăcii inverse a fungului cultivat pe PDA, variază între roz-cenușiu, roșu carmin sau vișiniu [7].



F.c. 5 *F.c*. 19 *F.c*. 20

Fig. 1. Aspectul morfologic al izolatelor *F. culmorum*

Noii derivați vinil-triazolici sintetizați (D.V.T) – EPS-165, MZ-115, MZ-118 au fost suplimentați la mediul nutritiv PDA în concentrațiile 0,02; 0,01; 0,005; 0,0025; 0,00125%, care s-a aseptizat prin autoclavare la presiunea de 0,5 atm timp de 30 min, turnat ulterior în cutii Petri, câte 10 ml în fiecare. După solidificarea mediului, fungii a fost inoculați în centrul cutiei Petri și menținuți în termostat la temperatura de 24°C. În funcție de viteza de creștere, înregistrarea diametrului coloniilor (câte 2 diametre perpendiculare, media cărora a servit ca indice biometric) s-a efectuat din ziua 3-4 până la ziua 6-7 de la însămânțare. Experiențele s-au efectuat în 4 repetiții. Datele au fost prelucrate statistic în pachetul de soft STATISTICA 7.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Datele prezentate în tab. 1, 2 denotă că cei 3 compuși luați în studiu – EPS-165, MZ-118, MZ-155 au acționat doar inhibitoriu asupra creșterii fungilor *Fusarium cul-*

morum 5 (*F.c*.5), *F. culmorum* 20 (*F.c.*20), efectul fiind mai prounțat odată cu creșterea concentrației de la 0,00125% la 0,02%. De exemplu, în ultima zi de înregistrare a diametrului coloniilor (ziua 7), la *F.c*.5, diminuarea a variat în diapazonul concentrațiilor menționate în limitele: -16,6 ... -66,4%, -16,0 ... -89,6%, -8,4 ... -62,0% față de martor, respectiv, compușilor EPS-165, MZ-118, MZ-155 (tab. 1).

Pentru *F.c*.20, în ultima zi de înregistrare (ziua 6) s-a constatat aceeași tendință de acțiune a D.V.T. ca și în cazul tulpinii *F.c*.5. Astfel, devierea diametrului coloniilor față de martor a constituit: - 32,4 ... -74,6%, -24,4 ...-68,4%, -13,6 ... -80,4%, respectiv, compușilor EPS-165, MZ-118, MZ-155 (tab. 2). În cazul tulpinii *F.c.*19 (tab. 3), de asemenea s-a constatat efectul concentrației asupra creșterii fungului, dar s-au manifestat și unele particularități. De exemplu, efecte inhibitorii semnificative ($p<0,05$) s-au înregistrat în cazul EPS-165 – 0,01%; 0,02%: -18,8%, -35,9%; MZ-118 – 0,0025%; 0,005%; 0,01%; 0,02%: -15,5%, -21,5%, -34,3%, 92,2%; MZ-155 – 0,005%, 0,01%; 0,02%: -10,5%, -49,5%; -76,4%, respectiv, D.V.T.

Tabel 1. Influența derivaților vinil-triazolici asupra creșterii coloniilor fungului *Fusarium culmorum 5*

Variantă	Concentrație, %	$x \pm m_{x,\ mm}$	Inhibiție, %	$x \pm m_{x,\ mm}$	Inhibiție, %
	Ziua 6			Ziua 7	
Martor	-	70,9±0,8	-	80,4±0,9	-
EPS-165	0,02	23,0±1,3*	-67,5	27,0±2,2*	-66,4
	0,01	44,3±0,6*	-37,6	52,3±0,9*	-35,0
	0,005	50,0±0,4*	-29,4	59,0±1,2*	-26,6
	0,0025	56,4±2,0*	-20,5	65,0±1,4*	-19,1
	0,00125	58,5±1,1*	-17,5	67,0±1,7*	-16,6
MZ-118	0,02	7,1±2,1*	-90,0	8,4±2,8*	-89,6
	0,01	22,1±0,9*	-68,8	28,5±2,1*	-64,5
	0,005	39,9±2,6*	-43,7	49,9±3,6*	-37,9
	0,0025	54,5±2,2*	-23,1	63,9±3,1*	-20,5
	0,00125	57,3±1,1*	-19,2	67,5±0,9*	-16,0
MZ-155	0,02	25,5±1,0*	-64,0	30,5±0,5*	-62,0
	0,01	40,9±1,7*	-42,3	47,6±2,0*	-40,7
	0,005	54,1±1,5*	-23,6	62,3±2,0*	-22,5
	0,0025	55,0±1,5*	-22,4	64,8±0,9*	-19,4
	0,00125	62,9±0,2*	-11,3	73,6±0,2*	-8,4

*- diferență de martor ($p<0,05$).

Tabel 2. Influența derivaților vinil-triazolici asupra creșterii coloniilor de fung *Fusarium culmorum 20*

Variantă	Concentrație, %	$x \pm m_{x, mm}$	Inhibiție, %	$x \pm m_{x, mm}$	Inhibiție, %
Ziua 5				Ziua 6	
Martor	-	88,6±0,8	-	90,0±0,0	-
EPS-165	0,02	17,0±1,9*	-80,8	22,8±2,5*	-74,6
	0,01	29,8±2,6*	-66,4	33,5±2,7*	-62,8
	0,005	41,4±3,3*	-53,3	50,6±3,1*	-43,8
	0,0025	45,3±4,0*	-48,9	53,9±4,0*	-40,1
	0,00125	51,8±0,6*	-41,6	60,9±0,6*	-32,4
MZ-118	0,02	24,6±2,0*	-72,2	28,4±3,1*	-68,4
	0,01	30,1±1,6*	-66,0	36,4±1,9*	-59,6
	0,005	44,4±0,9*	-49,9	54,5±1,5*	-39,4
	0,0025	50,8±0,5*	-42,7	61,3±1,2*	-32,0
	0,00125	57,3±1,0*	-35,4	68,0±1,0*	-24,4
MZ-155	0,02	13,0±1,7*	-85,3	17,7±1,7*	-80,4
	0,01	26,9±0,7*	-69,7	32,3±0,3*	-64,2
	0,005	42,1±1,0*	-52,5	48,4±0,9*	-46,3
	0,0025	54,5±0,7*	-38,5	63,0±0,9*	-30,0
	0,00125	66,8±0,9*	-24,7	77,8±0,7*	-13,6

*- diferență de martor ($p<0,05$).

În concentrațiile mai mici – 0,00125%; 0,0025% ale EPS-165 și MZ-155 s-au produs stimulări semnificative ($p<0,05$) ale creșterii coloniei: +22,2% ...+15,4% și +23,8 ...+11,8% față de martor, respectiv. Deci, cele mai puternice efecte inhibitorii în cazul tulpinilor *F.c.*5, *F.c.*20, *F.c.*19 s-au înregistrat în cazul compusului MZ-118, acțiunea depinzând în mare parte de concentrație.

Tabel 3. Influența derivaților vinil-triazolici asupra creșterii coloniilor tulpinii de fung *Fusarium culmorum 19*

Variantă	Concentrație, %	$x \pm m_{x, mm}$	Inhibiție/ stimulare, %	$x \pm m_{x, mm}$	Inhibiție/ stimulare, %
Ziua 6				Ziua 7	
Martor	-	42,3±2,2	-	47,8±2,9	-
EPS-165	0,02	23,6±1,6*	-44,1	30,6±2,0*	-35,9
	0,01	33,6±2,4*	-20,4	38,8±4,3*	-18,8
	0,005	40,9±4,1	-3,3	47,5±5,1	-0,5
	0,0025	47,5±1,4	+12,4	55,1±2,3*	+15,4
	0,00125	50,4±0,8*	+19,2	58,4±0,8*	+22,2

MZ-118	0,02	3,8±0,3*	-91,1	3,8±0,3*	-92,2
	0,01	20,4±3,4*	-51,8	31,4±3,3*	-34,3
	0,005	29,5±1,8*	-30,2	37,5±2,4*	-21,5
	0,0025	34,1±0,6*	-19,2	40,4±2,8*	-15,5
	0,00125	37,6±2,2	-11,0	45,9±2,1	-3,9
MZ-155	0,02	9,4±0,7*	-77,8	11,3±0,8*	-76,4
	0,01	20,4±0,9*	-51,8	24,1±0,9*	-49,5
	0,005	34,5±2,6*	-18,3	42,8±2,8	-10,5
	0,0025	45,4±2,0	+7,4	53,4±2,4*	+11,8
	0,00125	49,5±1,1*	+17,2	59,1±1,3*	+23,8

*- diferență de martor ($p<0,05$).

Pentru cuantificarea mai exactă a ponderii tuturor factorilor în sistemul *fung x compus x concentrație* în sursa de variație a creșterii izolatelor de *F. culmorum*, s-a procedat la analiza trifactorială (tab. 4).

Tabelul 4. Ponderea factorială a compusului, concentrației derivaților vinil triazolici, izolatei în capacitatea de creștere a fungului *F. culmorum*

Sursă de variație	**Grad de libertate**	**Suma medie a pătratelor**	**F**	**p**	**Ponderea în sursa de variație a creșterii ciupercii, %**
Ziua 3					
Izolată	2	1968,08*	377,64	0,000	38,89
Compus (structură)	2	255,0*	48,93	0,000	5,04
Concentrație	4	2541,22*	487,61	0,000	50,21
Izolată x compus	4	142,56*	27,36	0,000	2,82
Izolată x concentrație	8	93,40*	17,92	0,000	1,85
Compus x concentrație	8	27,91*	5,36	0,000	0,55
Izolată x compus x concentrație	16	27,82*	5,34	0,000	0,55
Efecte aleatorii	135	5,21			0,10
Ziua 4					
Izolată	2	2687,5*	363,11	0,000	32,19
Compus (structură)	2	480,1*	64,86	0,000	5,75
Concentrație	4	4754,2*	642,34	0,000	56,94
Izolată x compus	4	232,8*	31,45	0,000	2,79

Izolată x concentrație	8	104,0*	14,05	0,000	1,25
Compus x concentrație	8	44,3*	5,99	0,000	0,53
Izolată x compus x concentrație	16	39,6*	5,35	0,000	0,47
Efecte aleatorii	135	7,4			0,09
Ziua 5					
Izolată	2	3053,4*	289,91	0,000	26,97
Compus (structură)	2	502,1*	47,67	0,000	4,44
Concentrație	4	7111,3*	675,18	0,000	62,81
Izolată x compus	4	409,2*	38,85	0,000	3,61
Izolată x concentrație	8	104,5*	9,92	0,000	0,92
Compus x concentrație	8	67,1*	6,37	0,000	0,59
Izolată x compus x concentrație	16	64,2*	6,10	0,000	0,57
Efecte aleatorii	135	10,5			0,09
Ziua 6					
Izolată	2	3696,6*	264,42	0,000	24,69
Compus (structură)	2	684,2*	48,94	0,000	4,57
Concentrație	4	9647,8*	690,11	0,000	64,44
Izolată x compus	4	635,4*	45,45	0,000	4,24
Izolată x concentrație	8	114,8*	8,21	0,000	0,77
Compus x concentrație	8	97,8*	7,00	0,000	0,65
Izolată x compus x concentrație	16	82,2*	5,88	0,000	0,55
Efecte aleatorii	135	14,0			0,09

*- $p<0,05$.

S-a constatat că rolul decisiv în creșterea fungilor a revenit concentrației compusului care a variat în limitele 50,2 ... 64,4%. A fost destul de semnificativ și rolul factorului de izolată pe durata creșterii de la 3 la 6 zile: 24,7 ... 38,9%. Ponderea compusului (structurii) de 4,4 ...5,8% deși a avut suport statistic ($p<0,05$), totuși este minoră.

CONCLUZII

1. Testarea acțiunii derivatului vinil-triazolic MZ-118 asupra creșterii a 3 izolate *F. culmorum* (*F.c.*5, *F.c.*19, *F.c.*20) în condiții *in vitro*, a demonstrat efectul lui antifungic în diapazon larg de concentrații (0,00125 ...0,02%), iar în cazul acțiunii EPS-165, MZ-155 – în concentrațiile 0,01; 0,02% – pentru izolata *F.c.*19. Astfel preparatul MZ-118 oferă oportunități mai largi de utilizare în măsurile de protecție a plantelor de fungul *F. culmorum.*

2. Analiza factorială a demonstrat că în sistemul *F. culmorum* x *D.V.T. x concentrație*, ponderea principală în sursa de variație a creșterii fungului revine *concentrației D.V.T.* (50,2 ... 64,4%), urmată de factorul de izolată (24,7 ... 38,9%), ceea de notă rezistența diferențiată a izolatelor *F. culmorum* la acțiunea compușilor aflați în studiu.

REFERINȚE

1. SCHERM, B. et al. *Fusarium culmorum*: causal agent of foot and root rot and head blight on wheat. In: *Mol. Plant Pathol*., 2013, 14(4), p. 323-341. doi: 10.1111/mpp.12011.
2. BENTLEY, A. R. et al. A survey of Fusarium species associated with wheat and grass stem bases in northern Turkey. In: *Sydowia*, 2006, 58 (2), p. 163 - 177. ISSN: 0082-0598
3. MUELLER, B.D. et al. First Report of *Fusarium culmorum* Causing Fusarium Head Blight of Wheat in Wisconsin. In: *The American Phytopathological Society (APS) publication*, 2018. https://doi.org/10.1094/PDIS-08-17-1220-PDN
4. WAGACHA, J.M., MUTHOMI, J.W. *Fusarium culmorum*: infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. In: *Crop protection*, 2007, Vol. 26, issue 7, p. 877-885. ISSN 0261-2194.
5. Методы экспериментальной микологии. Киев: Наукова думка, 1982. 550 с. ISBN 577-81
6. BARNETT, H.L., HUNTER, B.B. Illustrated Genera of Imperfect Fungi, Fourth Edition. APS Press, 1998, 218 p.
7. HA, M.S. et al. Diversity and pathogenic characteristics of the *Fusarium* species isolated from minor legumes in Korea. In: *Sci Rep.,* 2023, 13, 22516. În:https://doi.org/10.1038/s41598-023-49736-4

NOTĂ. 010601 „*Studiul chimic al metaboliților secundari din sursele naturale locale și valorificarea potențialului lor aplicativ în baza lărgirii diversității moleculare cu funcționalitate multiplă*”;

011102 „*Extinderea și conservarea diversității genetice, ameliorarea genofondurilor de culturi agricole în contextul schimbărilor climatice*”, finanțate de Ministerul Educației și Cercetării.