

**Contract 160/20104**  
**Raport Stiintific – Etapa II/2015**  
**REZUMAT**

În cadrul proiectului a fost realizat modelul funcțional (parțial finalizat), respectiv, un produs multifuncțional pe baza unui consorțiu de ciuperci microscopice din genul *Trichoderma*, care au o acțiune de biostimulant, cu o amorsare echilibrată a diferitelor căi de apărare, însoțită de activitatea metabolismului secundar și de compuși bioactivi / fitonutrienți, pentru plantele de cultură, în special cele nutraceutice. Au fost caracterizate tulpinile *Trichoderma harzianum* Td50b și *T. asperellum* T36b din punctul de vedere taxonomic, cultural, morfologic, fiziologic, al caracteristicilor fizice și al activității lor biologice față de diferiți agenți fitopatogeni. Aceste tulpini au fost depozitate în National Collection of Agricultural and Industrial Microorganisms, Budapesta, Ungaria, sub numelele NCAIM (P) F 001412 și, respectiv, NCAIM (P) F 001434. Soluția inovativă realizată constituie obiectul cererii de brevet la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci (OSIM) A/00925/27.11.2015.

Prin cercetările efectuate referitoare la caracteristicile materialelor ceramice a fost obținut un produs multifuncțional pe bază de ceramici poroase (parțial finalizat), cu efect biostimulant pentru amorsarea echilibrată a răspunsului de apărare la plante, care pot fi utilizate și ca suport de condiționare pentru consorțiile de *Trichoderma*. Aceste studii au condus la depunerea cererii de brevet OSIM A/00947/02.12.2015.

Studiile efectuate în cadrul proiectului MAIA au permis obținerea unei dispersii apoase, omogene și stabile, ce conține particule de silice mezoporoasă, stabilizate de complexul acid oleic – oleat de sodiu, sintetizate pornind de la silicatul de sodiu și de la 3-aminopropiltriethoxisilan, capabile să încapsuleze un ulei esențial. Aceste studii au permis realizarea unui al treilea produs multifuncțional obținut în cadrul acestui proiect, pe bază de silice mezoporoasă și uleiuri esențiale, respectiv, ulei de cimbru (*Satureja hortensis*), procedeu care face obiectul unei cereri de brevet OSIM A/00925/27.11.2015.

Produsele multifuncționale pe bază de consorții de *Trichoderma*, de ceramici poroase cu nutrienți, din silice mezoporoasă și uleiuri esențiale, realizate în cadrul proiectului au fost testate în câmpul experimental de la SC Hofigal Import Export SRL România, în condiții de cultură de *Passiflora*, menținută conform celor mai bune practici agricole recomandate zonei. Aceasta a permis verificarea funcționării modelului funcțional de integrare a produselor multifuncționale cu practicile de cultură durabilă și caracterizarea activității acestor produse. Pe baza rezultatelor experimentale, s-a realizat scara de evaluare a preparatelor multifuncționale în funcție de parametrii morfo-fiziologici determinați: suprafață (arie) foliară, fotosinteză (fluorescența clorofilei), conductanța stomatală, producția de masă verde și valorile de compuși bioactivi antioxidanți analizați prin metode diferite. Obiectivul acestei etape a fost atins prin aceste teste *in vivo* asupra produselor multifuncționale în experiențe de câmp în anul 2015 la *Passiflora*. Rezultatele au permis depunerea la OSIM a 3 cereri de brevet: A/00923/2015, A/939/27.11.2015, A/00946/02.12.2015.

A fost realizat modelul funcțional teste alternative *in vitro* pentru determinarea activității biologice din plante de *Passiflora* tratate cu produse multifuncționale. Aceste teste s-au referit la capacitatea antioxidantă a extractelor din plante de *Passiflora*, respectiv, determinarea viabilității celulare (capacitatea de proliferare, morfologia

celulelor tratate comparativ cu cea normală, efectul citotoxic corelat cu valorile investigate), prin metoda cu roșu neutru și analiza morfologiei celulare prin microscopie optică în urma colorării Giemsa. A fost evaluat *in vitro* efectul citotoxic al extractelor vegetale din *Passiflora*, prin testarea a diferite concentrații pentru fiecare extract (50, 100, 150 μg/ml) pe linia celulară stabilizată NCTC clona 929 de țesut conjunctiv de la șoareci și prin efectuarea de teste cantitative (metode spectrofotometrice) și calitative (metode de microscopie optică). Influența extractelor vegetale de *Passiflora* asupra morfologiei celulelor NCTC a variat în funcție de concentrația extractului. În intervalul de concentrație 50 - 150 μg/ml nu s-au observat modificări importante ale morfologiei și densității celulare. La aceste concentrații, celulele au prezentat un aspect normal, cu 2-3 prelungiri, citoplasma fină, monocromă și foarte puține celule rotunjite. Concluziile acestor teste au relevat că plantele de *Passiflora* supuse tratamentului cu produse multifuncționale prezintă un efect antioxidant semnificativ, mai ales în cazul aplicării tratamentului la sol cu ceramici (V<sub>6</sub>), iar extractele din plantele tratate nu au efect citotoxic *in vitro* asupra unei linii celulare normale. Rezultatele în cazul inițializării verificării funcționalității produselor multifuncționale utilizate la tratarea plantelor de *Passiflora* prin teste *in vitro* au demonstrat un efect de protecție al celulelor la care s-a indus stres oxidativ cu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> în cazul extractelor de plante tratate cu variantele V<sub>6</sub> și V<sub>2</sub> de tratament. În toate cererile de brevet înaintate către OSIM se regăsește activitatea de analiză, testare și cercetările biologice și biochimice menționate.

În această etapă a proiectului, s-a urmărit protejarea drepturilor de proprietate intelectuală a soluțiilor inovative ce s-au realizat în etapa a doua a proiectul MAIA, ceea ce s-a concretizat în 6 cereri de brevete transmise la OSIM, care au fost menționate mai sus pentru fiecare produs multifuncțional obținut.

Rezultatele cercetărilor din această etapă au fost diseminate prin participarea cu lucrări la 14 manifestări științifice internaționale și 5 naționale.

De asemenea, au fost publicate 3 articole științifice în revistele cu indexare ISI: *Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus* (IF = 0,599, <http://www.acta.media.pl>), *Journal of Biotechnology* (IF = 3,34, <http://www.sciencedirect.com/science/journal/01681656/208/supp/S62>), *Revista de Chimie* (IF = 0,810, [www.revistadechimie.ro](http://www.revistadechimie.ro)).

Un număr de 4 articole științifice elaborate în această etapă au fost trimise spre publicare la diferite reviste, dintre care 3 articole la reviste indexate ISI (*Revista de Chimie*, <http://www.revistadechimie.ro>, *Materials*, <http://www.mdpi.com/journal/materials>, *Nanomaterials*, <http://www.mdpi.com/journal/nanomaterials>) și 1 articol la revista *Acta Botanici Horti Bucurestiensis* (<http://www.degruyter.com/view/ahbb>), indexată BDI.