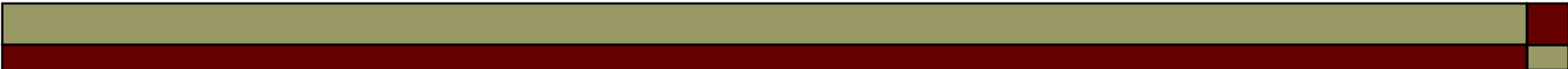


RAPORT DE ACTIVITATE

**“CERCETARI PRIVIND ACTIVITATEA
UNOR COMPUSI BIOLOGICI CU APLICATII
IN PROTECTIA ECOSISTEMELOR AGRICOLE”**

Contract nr. 300/2007
Cod proiect: ID_837
Director de proiect,
Conf. Dr. Irina GREBENIȘAN

08.07.2009



CUPRINS

1. Stadiul realizării indicatorilor de performanță.
2. Principalele rezultate noi, originale, valoroase din punct de vedere științific.
3. Implicarea tinerilor cercetători și modul în care se reflectă în cheltuielile de personal.
4. Dificultăți întâmpinate în derularea proiectului (științifice și /sau administrative)

1. Stadiul realizării indicatorilor de performanță

- Depunerea celor două tulpini nou izolate *Bacillus subtilis* IGB1 și *B. subtilis* IGB2, în colecția de culturi microbiene **NCAIM - National Collection of Agricultural and Industrial Microorganisms, Budapest, Hungary.**
- Obținerea numerelor de înregistrare a tulpinilor în colecția NCAIM.
- Întocmirea și depunerea dosarelor pentru obținerea brevetelor de invenție la O.S.I.M.

2. Principalele rezultate noi, originale, valoroase din punct de vedere științific

SCOP ȘI OBIECTIVE

- Scopul cercetărilor a fost identificarea și caracterizarea unor noi tulpini bacteriene în scopul obținerii unor biofungicide pe bază de bacterii utile în combaterea biologică a fungilor fitopatogeni din genul *Alternaria*.
- Pentru realizarea scopului propus s-au avut în vedere următoarele obiective:
- Izolarea și identificarea unor noi tulpini bacteriene antagoniste față de fungii fitopatogeni de interes;
- Stabilirea potențialului antifungic al noilor tulpini bacteriene prin testarea *in vivo* față de agentul fitopatogen *Alternaria spp.* pe semințe de tomate și ardei;
- Caracterizarea prin tehnici clasice și moderne - analiza profilului fiziologic pe baza sistemului de identificare MicroLog – Biolog și tehnica FISH - fluorescence *in situ* hybridization a tulpinilor bacteriene;

TULPINI BACTERIENE UTILIZATE ÎN EXPERIMENTE

Nr. Crt.	Microorganisme	Notația	Proveniența
1.	<i>Bacillus sp.</i>	IGB1	Sol
2.	<i>Bacillus sp.</i>	IGB2	Sol
3.	<i>Pseudomonas sp.</i>	IGP1	Sol
4.	<i>Pseudomonas sp.</i>	IGP2	Sol

METODE DE IDENTIFICARE ȘI CARACTERIZARE A MICROORGANISMELOR ANTAGONISTE

- ❑ **Caracteristicile culturale** – culoarea coloniei, forma și textura:
- ❑ Pe mediu solid geloză tulpinile IGB1 și IGB2 formează colonii de tip R cu aspect rugos, margini neregulate, aspre, plate, de dimensiuni mari, de culoare crem.
- ❑ Pe mediu solid geloză tulpinile IGP1 și IGP2 formează colonii de tip S cu aspect lucios, margini regulate, bombate, de dimensiuni mici, de culoare crem.

CARACTERE MORFOLOGICE ALE MICROORGANISMELOR ANTAGONISTE

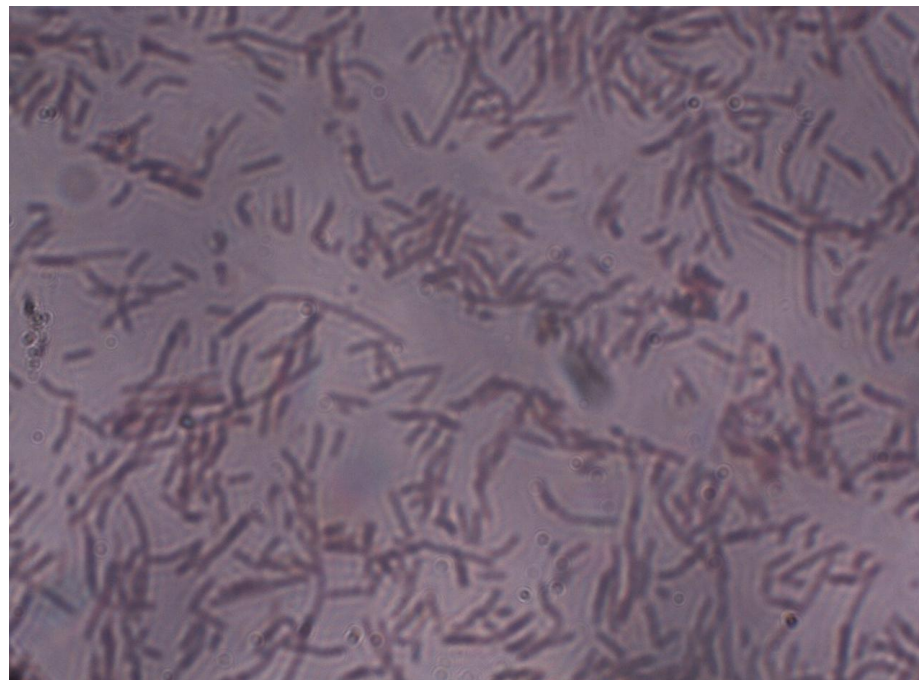


Fig. 1 Evidențierea caracterelor morfologice prin colorație Gram a noilor tulpini bacteriene izolate
(vizualizat obiectiv 100 x)

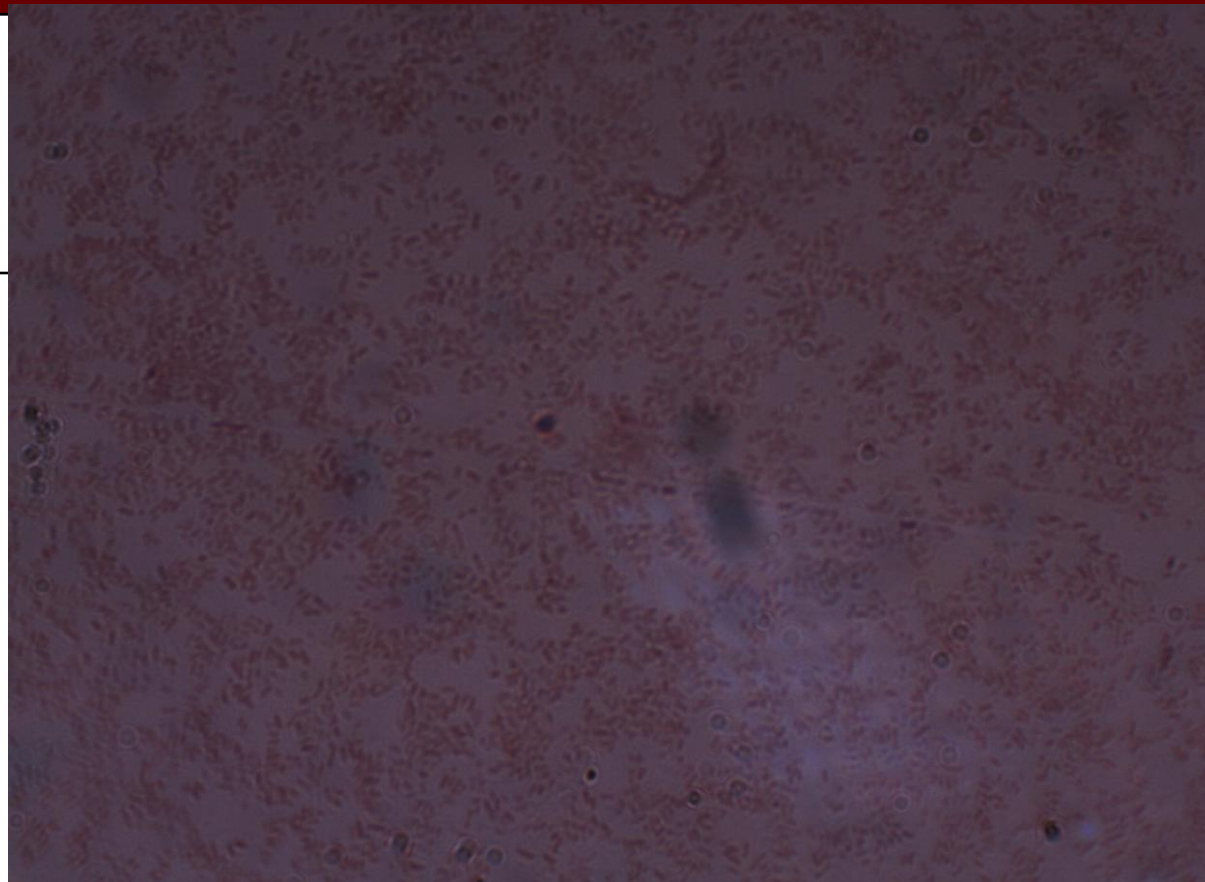


Fig. 2 Evidențierea caracterelor morfologice prin colorație
Gram a noilor tulpini bacteriene izolate
(vizualizat obiectiv 100 x)

Analiza profilului fiziologic pe baza sistemului de identificare MicroLog – Biolog:

Acest sistem de identificare se bazează pe reducerea tetrazoliului ca urmare a reacțiilor chimice metabolice și nu pe identificarea unor compuși secundari de metabolism (de exemplu producerea de acizi).

Cu ajutorul microplăcilor Biolog GP2 pot fi identificate toate tipurile de microorganisme Gram pozitive: coci, bacili (inclusiv bacili care sporulează).

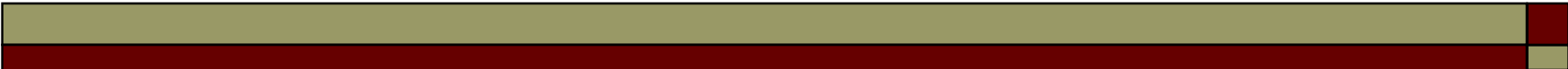
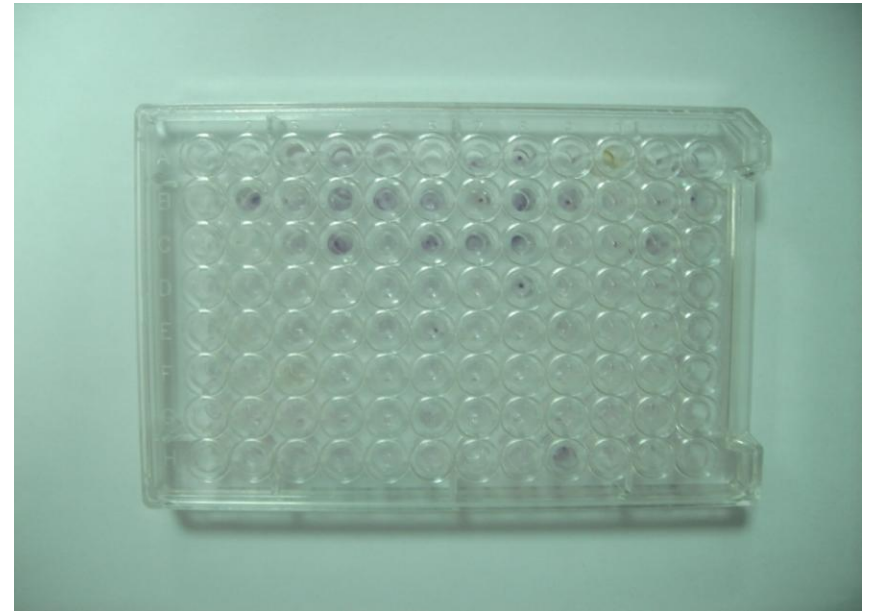
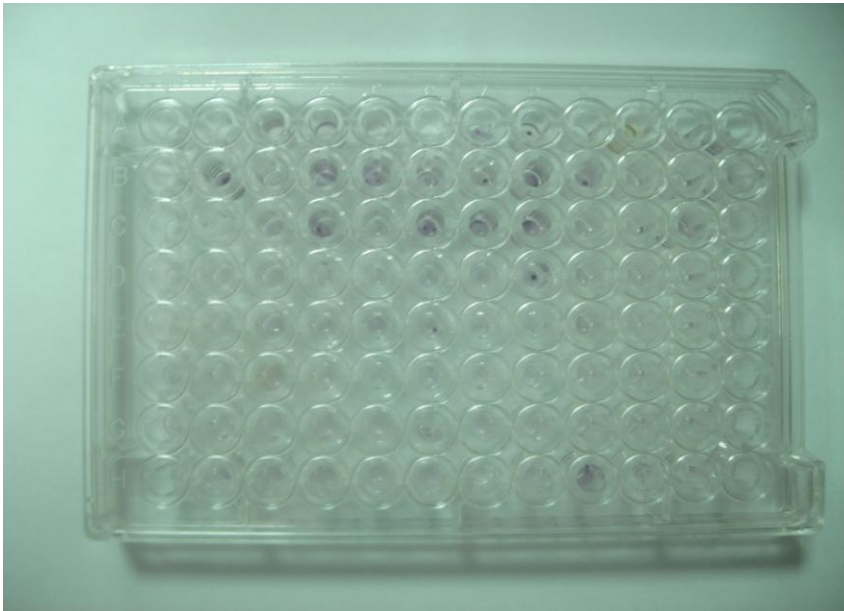
- 
- ❑ Cu microplăcile Biolog GN2 pot fi identificate toate tipurile de microorganisme Gram negative: fermentative, nefermentative și pretențioase.
-
- ❑ Baza de date pentru microplăcile Biolog GP2 cuprinde peste 310 specii, iar cea pentru microplăcile Biolog GN2 cuprinde peste 500 specii fiind una dintre cele mai mari baze de date disponibilă în prezent.
 - ❑ Cu ajutorul microplăcilor Biolog se pot realiza 95 de teste biochimice simultan, obținându-se astfel un profil caracteristic numit *amprentă metabolică*. Profilul metabolic este comparat și identificat cu ajutorul softului bazei de date Microlog™.

Fig. 3 Microplăcile Biolog GP2 –
evidențierea profilului fiziologic al tulpinilor bacteriene IGB1 și
IGB2



TEHNICA FISH - metodă de identificare rapidă a microorganismelor

- Tehnica FISH — ~~fluorescence~~ *in situ* ~~hybridization~~ permite identificarea microorganismelor din orice tip de probe din mediu (probe de apă sau sol). Tehnica presupune trei etape:
- fixarea celulelor (astfel sunt conservate moleculele de ADN sau ARN);
- permeabilizarea membranelor celulare pentru a facilita accesul sondelor oligo- sau polinucleotidice la situsul țintă;
- hibridizarea ARN ribozomal cu sondele nucleotidice. Sondele pot fi marcate direct cu fluorocromi sau colorantul este introdus în următoarea etapă de detecție a microorganismelor.

- Probele pot fi apoi analizate prin:
 - tehnici de microscopie cu epifluorescență,
 - laser scanning (CLSM – Confocal Laser Scanning Microscopy)
 - flow cytometry.
- Tehnica FISH clasică se bazează numai pe utilizarea ARNr (în general 16S) ca țintă pentru sondele nucleotidice, deoarece acesta este prezent în toate celulele într-un număr relativ mare de copii.
- Deoarece ARNr este utilizat ca marker filogenetic există numeroase baze de date legate de secvențierea acestuia necesare pentru design-ul sondelor.

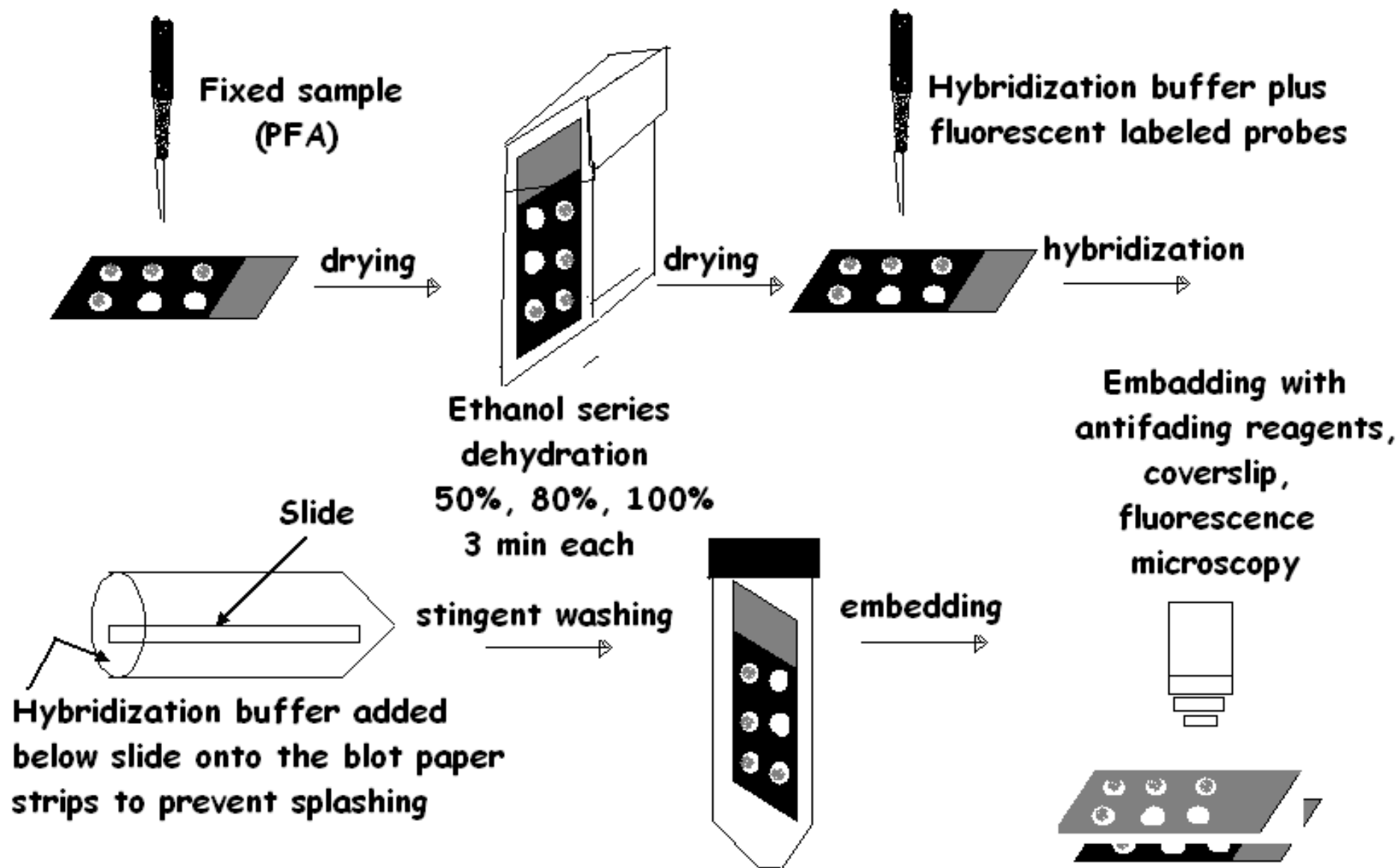
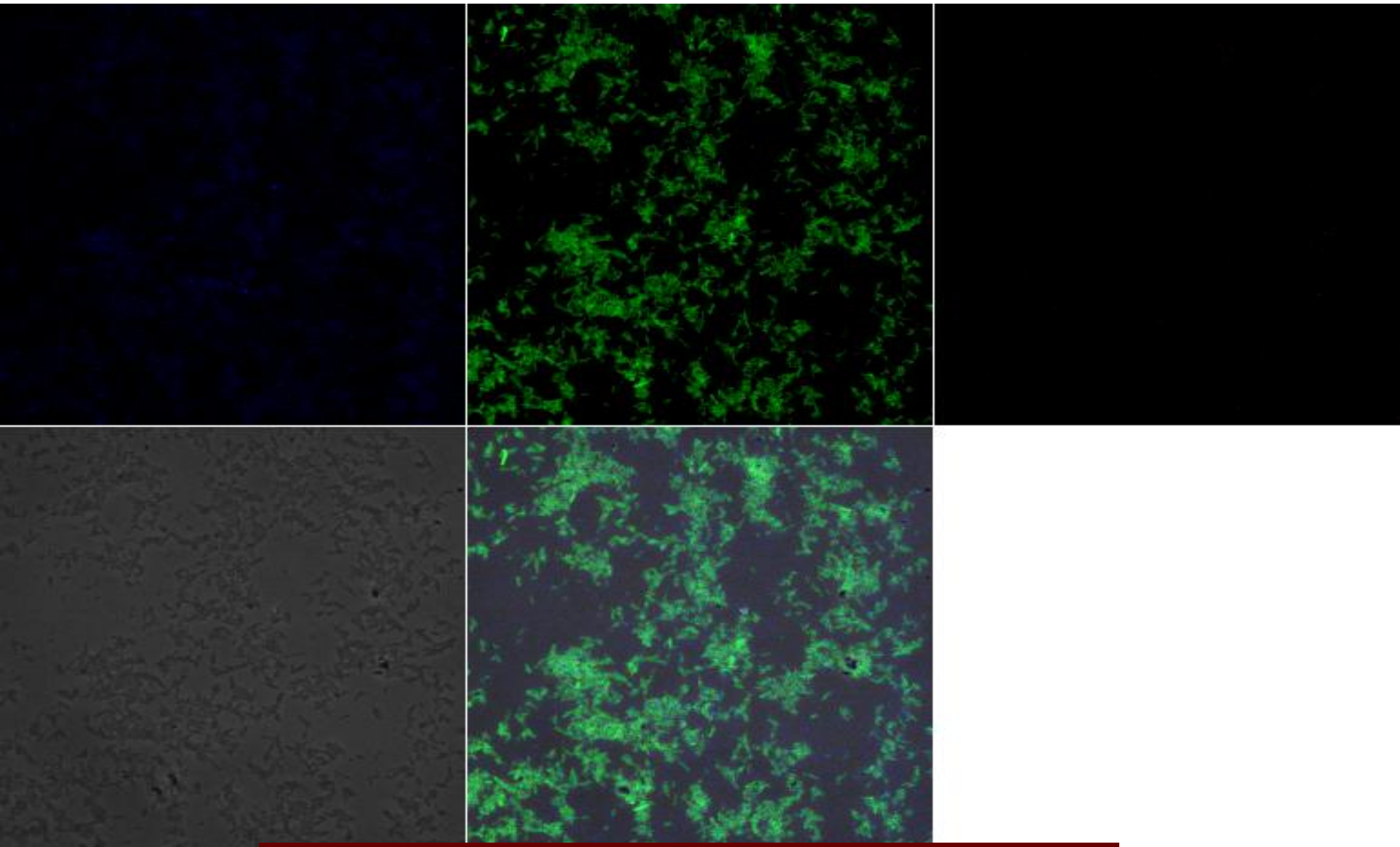


Fig. 4 Reprezentarea schematică a tehnicii FISH

Fig. 5 Examinarea microscopică cu epifluorescență
a tulpinilor de *Pseudomonas*



EUB 1 Fluos, EUB2 Cy5, EUB 3 Cy3

Fig. 6 Examinarea microscopică cu epifluorescență
a tulpinilor de *Bacillus*

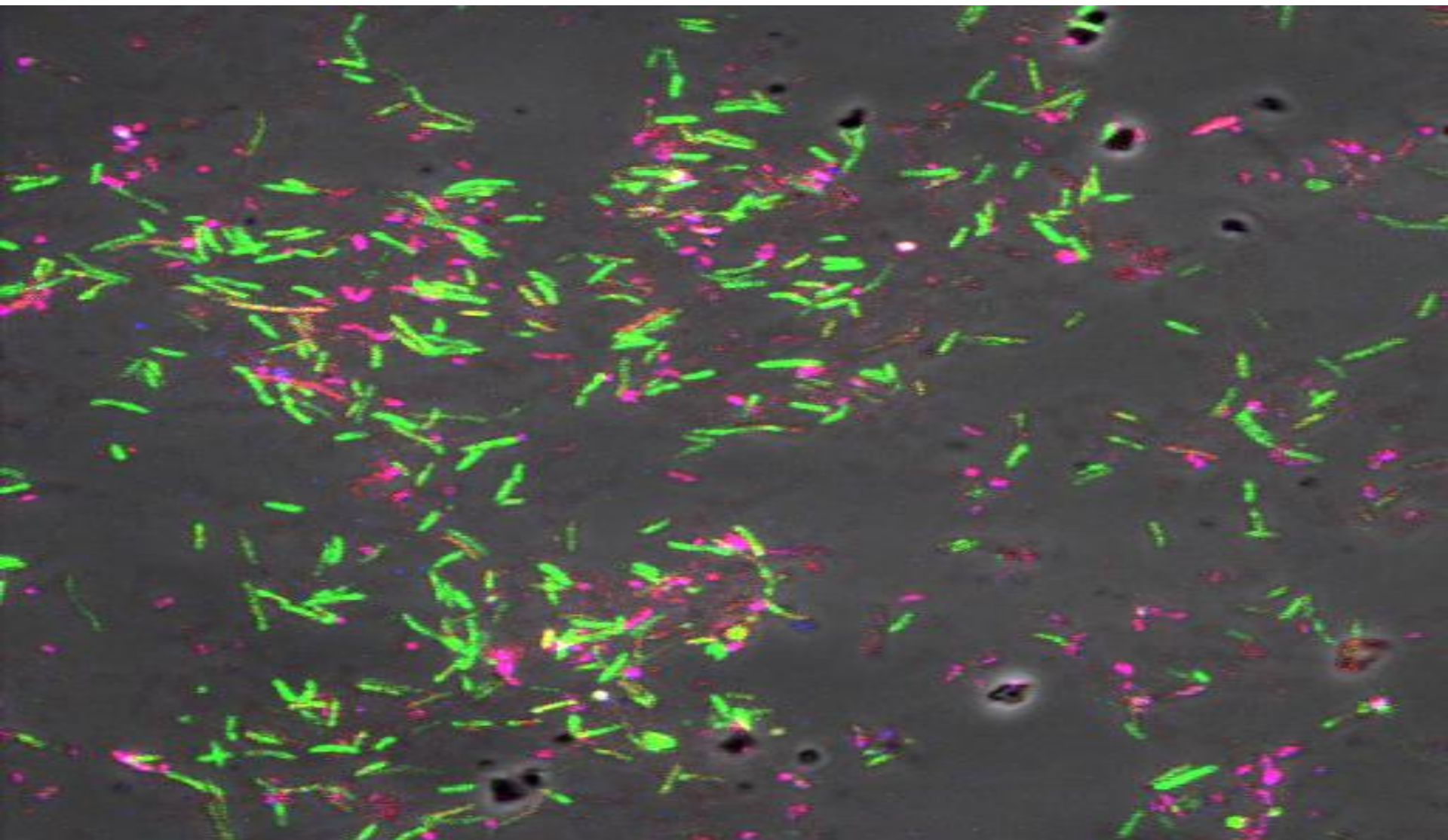
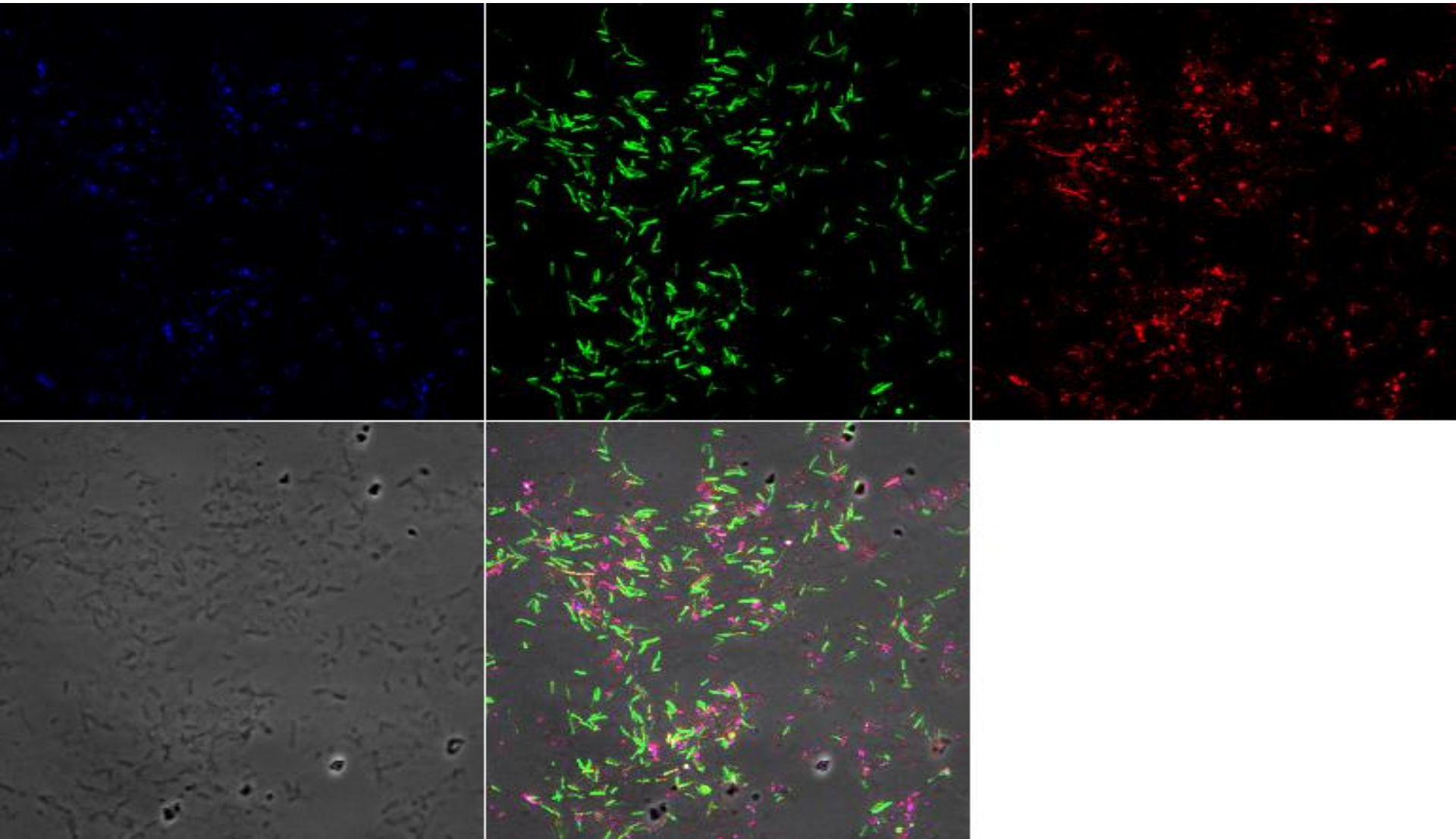


Fig. 7 Examinarea microscopică cu epifluorescență a tulpinilor de *Bacillus*

EUB 1 Fluos, EUB2 Cy5, EUB 3 Cy3



MULȚUMIRI

Studiile prezentate în această lucrare au fost realizate cu suportul financiar al proiectului cu tema “CERCETARI PRIVIND ACTIVITATEA UNOR COMPUSI BIOLOGICI CU APLICATII IN PROTECTIA ECOSISTEMELOR AGRICOLE”, cod ID_837, nr. 300/ 01.10.2007 din cadrul PN II programul IDEI.

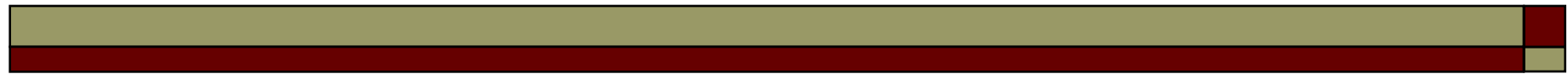
Obiective științifice	Activități asociate	Rezultate
1.6. Studii de biologie moleculară pentru identificarea microorganismelor	1.6.1. Izolarea și caracterizarea ADN cromosomal de la microorganismele izolate 1.6.2. Izolarea și caracterizarea ADN plasmidial de la microorganismele izolate	- Studii de biologie moleculară pentru identificarea microorganismelor - Izolarea și caracterizarea ADN cromosomal și plasmidial

Izolarea ADN cromosomal bacterian cu kitul Wizard Genomic DNA Purification Promega de la bacterii Gram-pozitive și Gram-negative

1. Se centrifughează 2 minute la 13.000 rpm 1 ml cultură bacteriană tânără obținută prin cultivare în mediu LB timp de 18 h la 30 sau 37°C;
2. Se aspiră supernatantul, apoi pentru bacterii Gram-pozitive se trece la etapa a 3 a, iar pentru bacterii Gram-negative la etapa a 6 a;
3. Sedimentul celular se resuspendă în 480 μl EDTA 50 mM, pH=8,0;
4. Se adaugă 120 μl lizozim sau lizostafin 10 mg/ml și se suspensionează ușor cu micropipeta automată; Pentru tulpini bacteriene Gram pozitive cum sunt *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Nocardia sp.*, *Rhodococcus rhodochrous* și *Brevibacterium albidum* tratamentul cu lizozim este eficient;



5. Se incubează 30 – 60 minute la 37°C, apoi se centrifughează 2 minute la 13.000 rpm și se aspiră supernatantul;
6. Se adaugă 600 μl soluție pentru liză și se suspensionează ușor cu micropipeta până suspensia devine omogenă;
7. Se incubează 5 minute la 80°C pentru a facilita liza celulelor, apoi se răcește la temperatura camerei;
8. La lizatul celular se adaugă 3 μl soluție RN-ază, apoi tubul se inversează de două-cinci ori pentru suspensionare;
9. Se incubează 15-60 minute la 37°C, apoi se răcește la temperatura camerei;



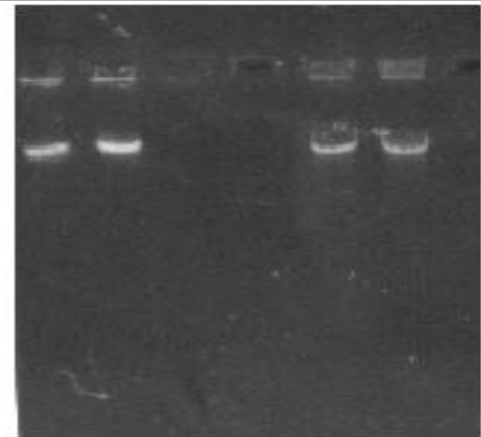
10. La lizatul celular tratat cu RN-ază se adaugă 200 μ l soluție pentru precipitarea proteinelor și se vortexează la viteza maximă timp de 20 secunde pentru amestecarea soluției de precipitare;
11. Proba se incubează pe gheață 5 minute;
12. Se centrifughează 3 minute la 13.000 rpm;
13. Se transferă supernatantul (trebuie aspirat foarte încet pentru a se evita contaminarea cu proteine) ce conține soluția de ADN într-un tub Eppendorf nou în care s-au introdus 600 μ l alcool izopropilic (păstrat la temperatura camerei);
14. Se amestecă ușor prin inversarea tubului până când ADN-ul formează o masă vizibilă;
15. Se centrifughează 2 minute la 13.000 rpm;

16. Se aspiră cu grijă supernatantul și se aruncă, păstrându-se sedimentul; tubul se întoarce cu gura în jos și se așează pe un prosop de hârtie pentru a fi absorbit tot alcoolul; se adaugă 600 μ l etanol 70% (păstrat la temperatura camerei) și se inversează de câteva ori pentru a spăla sedimentul de ADN;
17. Se centrifughează 2 minute la 13.000 rpm și se aspiră cu grijă etanolul;
18. Tubul se întoarce cu gura în jos și se așează pe un prosop de hârtie pentru a fi absorbit tot alcoolul, apoi se lasă 10-15 minute să se evapore la temperatura camerei ;
19. Se adaugă 100 μ l soluție pentru rehidratarea ADN și se incubează 1 oră la 65°C; periodic se amestecă ușor tubul; ADN poate fi rehidratat și prin incubarea peste noapte la temperatura camerei sau la 4 °C;
20. Soluția de ADN se păstrează la frigider până se utilizează pentru experimente ulterioare.

Izolarea ADN plasmidial din tulpinile de *Bacillus subtilis*

1. Bacteriile se cultivă 18 ore în mediu de cultură LB lichid (inocularea făcându-se cu 50 μ l inocul pentru 2,5 ml mediu LB), la 37°C sub agitare (90 rpm), celulele din 1,25 ml cultură se separă de mediu prin centrifugare 6 minute la 7.000 rpm.
2. Sedimentul celular se spală cu tampon TES (Tris 50 mM, pH 8, EDTA 1 mM, NaCl 100 mM) apoi se resuspendă în 100 μ l soluție TSS (Tris 50 mM, pH 8, NaCl 100 mM, sucroză 25%) ce conține 2,5 μ l soluție de lizozim (20 mg/ml în TES) pentru distrugerea peretelui celular, apoi se incubează 1 h la 37°C (temperatura optimă de acțiune a lizozimului).
3. Se adaugă pe rând următoarele soluții, amestecând după fiecare adăugare: 24 μ l NaCl 5M, 6 μ l EDTA 0,5M (pH 8) și 125 μ l SDS 2% (preparat în NaCl 0,7M). Se incubează la 4°C peste noapte.

4.În urma centrifugării, se reia supernatantul la care se adaugă 12,5 μ l NaCl 5M la fiecare 100 μ l supernatant și se încălzește la 65 oC, timp de 15 minute. După răcire, se centrifughează pentru a elimina proteinele precipitate. La supernatantul obținut se adaugă un volum de soluție PEG 6000 40% și se incubează o oră pe gheață. După centrifugare, se reia sedimentul în 30 μ l TE, se adaugă 50 μ l RN-ază (1 mg/ml soluție stoc) și se incubează 30 de minute la temperatura camerei.



Aspectul electroforetic al ADN extras din tulpinile de *Bacillus subtilis* IGB1 (liniile 1, 2) și IGB2 (liniile 3, 4)

Obiective științifice	Activități asociate	Rezultate
1.7. Identificarea microorganismelor prin metoda FIGE	1.7.1. Elaborarea metodologiei pentru obtinerea cromosomilor intacti; 1.7.2. Prepararea cromosomilor intacti; 1.7.3. Elaborarea metodologiei pentru analiza electroforetica a cariotipului microorganismelor; 1.7.4. Cariotiparea microorganismelor	- Identificarea microorganismelor prin tehnica FIGE -Elaborarea metodologiilor pentru obtinerea: -cromosomilor intacti si -analiza cariotipului

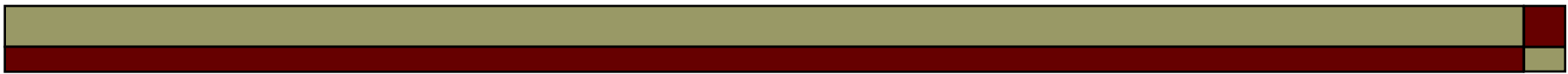
Elaborarea metodologiei pentru obtinerea cromosomilor intacti

Prepararea cromosomilor intacti

Izolarea ADN bacterian pentru FIGE (field inversion gel electrophoresis)

Prima zi:

1. Celulele bacteriene din 10 ml suspensie de 20 ore se depun prin centrifugare 10 min. la 6.000 rpm și se reiau în 0,2 ml tampon ES (EDTA 25 mM, NaCl 75 mM).
2. Separat se prepară câte 1 ml agaroză LMP (Sigma) 1,5% în același tampon ES (pentru fiecare tulpină bacteriană analizată).
3. Se amestecă rapid suspensia bacteriană cu soluția de agaroză menținută pe baie de apă la 50°C, iar amestecul obținut se introduce cu o pipetă în dispozitivul de formare a bloculețelor.
4. Se menține amestecul la rece timp de 30 minute, apoi cu ajutorul unui bisturiu se taie bloculețe de circa 1 mm grosime.



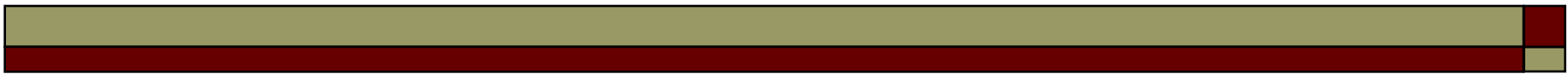
5. Bloculețele se introduc într-o eprubetă care conține 3 ml tampon de liză 1 (Tris HCl 6 mM, EDTA 100 mM, NaCl 1 M; Brij 58 0,5% (m/v), deoxicolat de sodiu 0,2% (m/v), sarcozilat de sodiu 0,5% (m/v), pH 7,5) ce conține lizozim (0,5 mg/ml) și se incubează peste noapte la 37°C.

A 2-a zi:

6. Se îndepărtează tamponul de liză 1 și se adaugă tamponul de liză 2 (sarcozilat de sodiu 1% (m/v), EDTA 500 mM, pH 9,5), care conține proteinază K (500 μg/ml).
7. Se incubează peste noapte la 56°C.

A 3-a zi:

8. Se îndepărtează tamponul de liză 2 și se adaugă același tampon, continuându-se incubarea peste noapte la 56°C.



A 4-a zi:

9. Se îndepărtează soluția de liză, iar bloculețele se spală de 3 ori cu tampon TE (Tris HCL 10 mM, EDTA 10 mM, pH 7,5), la rece.
10. Bloculețele pot fi utilizate imediat sau pot fi păstrate la 4°C timp de câteva luni.

Tratarea probelor de ADN cu enzime de restricție

1. Se repartizează în tuburi Eppendorf câte trei bloculețe și se spală repetat cu apă distilată sterilă.
2. Peste bloculețele astfel pregătite se adaugă 50 μ l amestec pentru restricția enzimatică (tampon de incubare pentru enzimele de restricție alese pentru experimente - Hind III, Sma I și Not I și 30U enzimă).
3. Se incubează la temperatura optimă de acțiune a enzimei: 37°C pentru Hind III și Not I și 25°C pentru Sma I.

Prezentarea echipamentului pentru tehnica FIGE

Echipamentul pentru electroforeza în câmp inversat (Field Inversion Gel Electrophoresis - FIGE) este format din:

1. computer care permite programarea timpilor de migrare pentru direcțiile înainte și înapoi, timpul total de migrare, numărul de cicluri
2. aparat de electroforeză pentru acizi nucleici în gel de agaroză în sistem submers
3. inversor de câmp electric comandat de computer.

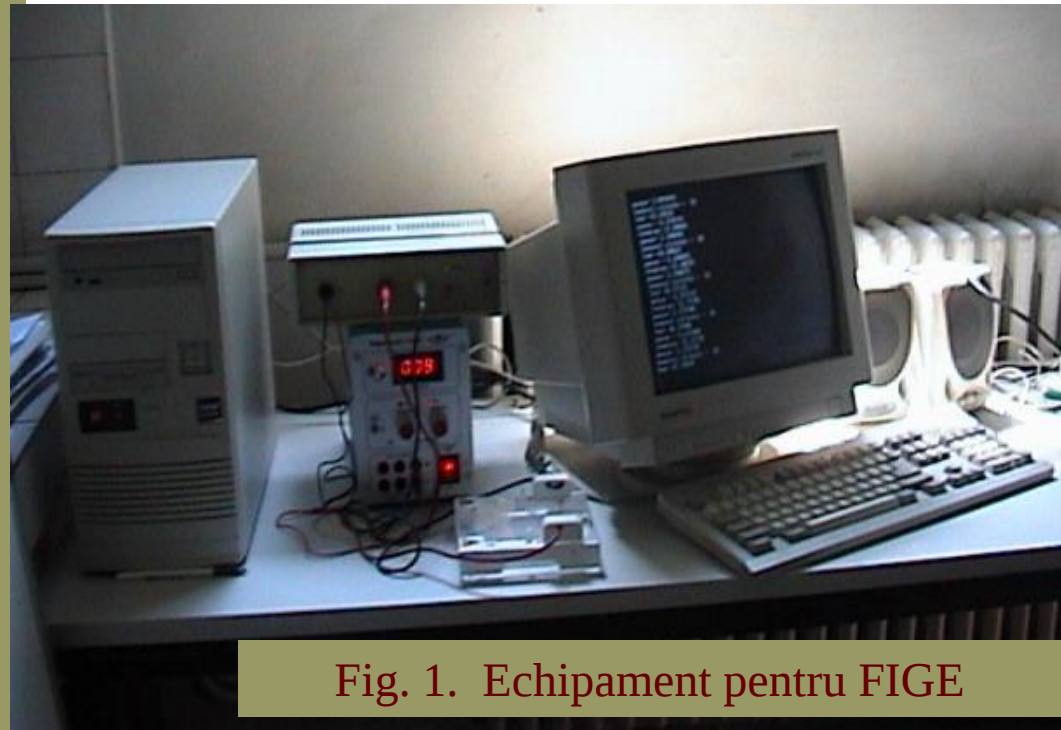


Fig. 1. Echipament pentru FIGE

Elaborarea metodologiei pentru analiza electroforetică a cariotipului microorganismelor

Cariotiparea microorganismelor

Electrocariotiparea

1. Separarea fragmentelor de ADN se realizează în gel de agaroză 1,2% (în care s-a introdus bromura de etidiu) în tampon TBE 0,5x (Tris HCl 45 mM, acid boric 45 mM, EDTA 1 mM, pH 8,3).
2. După răcirea gelului se îndepărtează pieptenul, iar în godeuri se introduc cu atenție bloculețele pregătite anterior.
3. Se acoperă godeurile cu o cantitate mică de agaroză 1,2%.
4. Migrarea probelor de ADN se realizează la 15°C în diferite condiții, modificând atât timpii de migrare, cât și intensitatea curentului electric aplicat.
5. Profilurile electroforetice obținute pentru tulpinile microbiene proprii au fost comparate cu cele obținute pentru marker-ul comercial: Pulse Marker 0,1-200 kb produs de Sigma.

Parametrii pentru electrocariotipare

- timp inițial de migrare înainte (foreward – Fwi) = 10 sec
- timp final de migrare înainte (foreward – Fwf) = 120 sec
- pauza pentru direcția înainte (Pfw) = $1/10$ Fwi
- timp de migrare invers (reverse – Rv) = $1/3$ Fwi
- pauza pentru direcția invers (Prv) = $1/10$ Rv
- timpul de migrare 24 h
- premigrare 10 min la 30 V
- migrare finală 30 V

Obiective științifice

Activități asociate

Rezultate

1.8. Studiarea producerii biosurfactantilor

1.8.1. Screeningul microorganismelor producătoare de biosurfactanti

1.8.2. Testarea producerii biosurfactantilor pe medii ce contin diferite hidrocarburi

1.8.3. Izolarea si identificarea biosurfactantilor

- Studii privind producerea de biosurfactanti
- Screeningul microorganismelor producătoare de biosurfactanti
- Teste pentru producerea biosurfactantilor pe medii ce contin hidrocarburi
- Studii privind izolarea si identificarea biosurfactantilor

Screeningul microorganismelor producătoare de biosurfactanți

1. Pentru realizarea preinoculului tulpinile bacteriene se cultivă 8-24 h LA 30°C în condiții de agitare 120 RPM în mediu lichid pentru producerea de iturin.
2. Din preinocul se inoculează câte 10 ml mediu pentru iturin în baloane ERLÉNMEYER și se incubează în aceleași condiții de cultivare timp de 5 zile.
3. După cele 5 zile, mediile de cultură se centrifughează 10 min. la 8.000 RPM pentru sedimentarea celulelor bacteriene, apoi pH-ul supernatantului se ajustează la 2,0 cu HCl 1N, pentru precipitarea peptidelor.
4. După incubarea timp de 1 h la 4°C precipitatul se colectează prin centrifugare 10 min. la 10.000 RPM și se supune extracției cu alcool metilic 1/10 din volumul mediului de cultură supus extracției.
5. Extractele obținute se supun separării prin cromatografie în strat subțire pe plăci de silicagel, folosind pentru migrare un amestec de cloroform /etanol /metanol /apă (70/ 35/ 30/ 15, VOL/ VOL/ VOL/ VOL) și relevare cu o soluție acetonică de ninhidrină 0,3%.

Screeningul microorganismelor producătoare de biosurfactanți

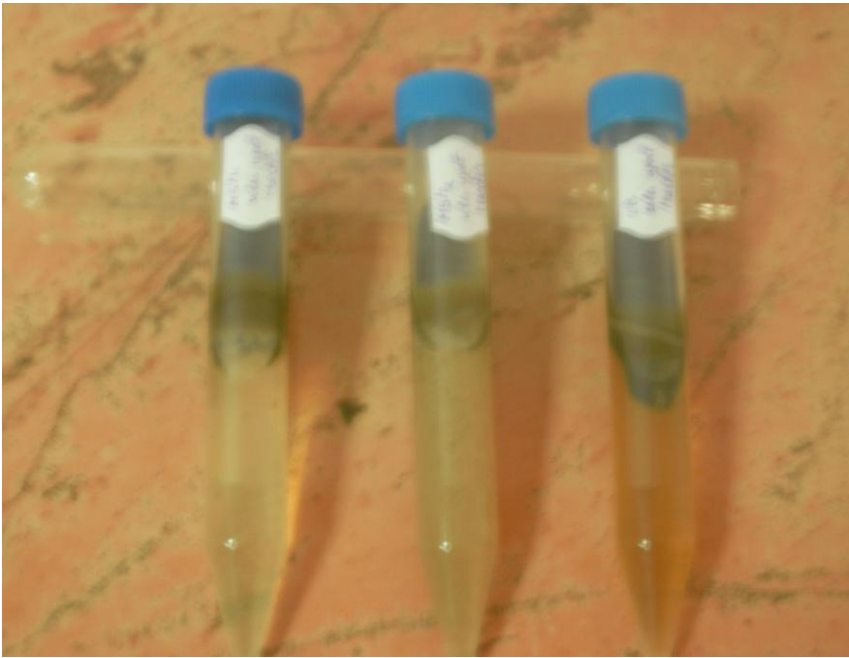


Fig. 3 Martor a) MSM1, b) MSM2, c) LB



Fig. 4 a) MSM1+IGB2, b)MSM2+IGB2,
c)LB+IGB2

1.9.1. Studii privind colonizarea si formarea pe radacini de tomate si ardei a biofilmelor de catre o tulpina de tip salbatic a *B. subtilis* si un organism modificat genetic cu radiatii UV

1.9.2. Studii privind biocontrolul impotriva fungilor patogeni *Alternaria* spp., *Fusarium oxysporum* si *Rhizoctonia solani*;

1.9.3. Studii privind formarea surfactantilor si implicarea lor in formarea biofilmului realizat de *B. subtilis* si capacitatea de biocontrol in vivo, prin utilizarea unei tulpini mutante de *B. subtilis* care a suferit o deletie la nivelul genei care codifica pentru sinteza de surfactin fiind astfel incapabila sa produca acest compus;

1.9.4. Dezvoltarea unui sistem experimental cu ajutorul caruia sa studiem patogenicitatea fungilor folosind radacinile de tomate si ardei ca gazde

- Studii privind interactiile dintre microorganisme benefice si plante

- Studii privind colonizarea si formarea pe radacini de tomate si ardei a biofilmelor de catre o tulpina de tip salbatic a *B. subtilis* si un organism modificat genetic cu radiatii UV

- Studii privind biocontrolul impotriva fungilor patogeni *Alternaria* spp., *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani*;

- Studii privind formarea surfactantilor si implicarea lor in formarea biofilmului realizat de *B. subtilis* si capacitatea de biocontrol in vivo, prin utilizarea unei tulpini mutante de *B. subtilis* care a suferit o deletie la nivelul genei care codifica pentru sinteza de surfactin fiind astfel incapabila sa produca acest compus;

- Dezvoltarea unui sistem experimental cu ajutorul caruia sa studiem patogenicitatea fungilor folosind radacinile de tomate si ardei ca gazde

1.9. Studii privind interactiile microorganisme benefice plante

Studii privind biocontrolul împotriva fungilor patogeni *Alternaria* spp., *Fusarium oxysporum*

TESTAREA *IN VIVO* A TULPINILOR BACTERIENE IZOLATE

1. Tulpinile de bacili obținute din probe de sol au fost selectate și cultivate timp de 18 ore la 30°C în mediu lichid pentru stimularea producerii compușilor inhibitori;
2. Se cântăresc câte 100 g sol și se repartizează în trei pahare de plastic pentru fiecare variantă experimentală;
3. Pentru varianta V1 se pun câte cinci semințe de tomate sau ardei și 1000 μl suspensie bacteriană IGB1, respectiv IGB2; pentru varianta V2 se pun câte cinci semințe de tomate sau ardei și 1000 μl suspensie bacteriană IGB1, respectiv IGB2 + 1000 μl suspensie fungică de *Alternaria* sp., respectiv *Fusarium oxysporum*; pentru varianta V3 se pun câte cinci semințe de tomate sau ardei și 1000 μl suspensie fungică de *Alternaria* sp., respectiv *Fusarium oxysporum*;
4. După ce semințele germinează plăntuțele se stropesc zilnic cu apă;
5. După trei săptămâni se fac aprecierile rezultatelor experimentelor.

Aspecte ale experimentelor *in vivo* pentru stabilirea potențialului antifungic al tulpinilor bacteriene IGB1 și IGB2

Alternaria spp.



Aspecte ale experimentelor *in vivo* pentru stabilirea potențialului antifungic al tulpinilor bacteriene IGB1 și IGB2

Fusarium oxysporum



3. Implicarea tinerilor cercetători și modul în care se reflectă în cheltuielile de personal

*UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRONOMICE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ BUCUREȘTI
FACULTATEA DE HORTICULTURĂ*

**OBȚINEREA DE BIOSURFACTANȚI ȘI UTILIZAREA LOR
ÎN PROTECȚIA MEDIULUI ȘI A CULTURILOR HORTICOLE**

**CONSIDERAȚII ASUPRA OBȚINERII DE BIOSURFACTANȚI ȘI ROLUL LOR ÎN
PROTECȚIA PLANTELOR ȘI ÎN BIOREMEDIERE**

REFERAT I

**CONDUCĂTOR DOCTORAT:
PROF. DR. GH. CÂMPEANU**

**DOCTORAND:
Ing. Bitehnolog VIOLETA OLTEANU MARIN
BUCUREȘTI
2008**

UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRONOMICE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ BUCUREȘTI
FACULTATEA DE HORTICULTURĂ

OBȚINEREA DE BIOSURFACTANȚI ȘI UTILIZAREA LOR
ÎN PROTECȚIA MEDIULUI ȘI A CULTURILOR HORTICOLE

**STUDIAREA MICROORGANISMELOR FOLOSITE PENTRU OBȚINEREA DE
BIOSURFACTANȚI ȘI ROLUL LOR ÎN PROTECȚIA PLĂNTELOR
ȘI ÎN BIOREMEDIERE**
REFERAT II

CONDUCĂTOR DOCTORAT:
PROF. DR. GH. CÂMPEANU

DOCTORAND :
Ing. Bîtehnolog VIOLETA OLTEANU MARIN

BUCUREȘTI
2008

Nota privind utilizarea bugetului

Valoare brut angajat (lei)/ lună

nov.08	dec.08	ian.09	feb.09	mar.09	apr. 09	mai.09	iun.09	iul.09	aug.0 9	sep. 09	TOTAL
987,8	740,9	740,9	987,8	1.086,6	0,0	987,8	1.086,6	423,4	0,0	0,0	8.982,00

UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRONOMICE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ BUCUREȘTI
FACULTATEA DE ÎMBUNĂTĂȚIRI FUNCIARE
ȘI INGINERIA MEDIULUI
SPECIALIZAREA
PROTECȚIA MEDIULUI ÎN AGRICULTURĂ

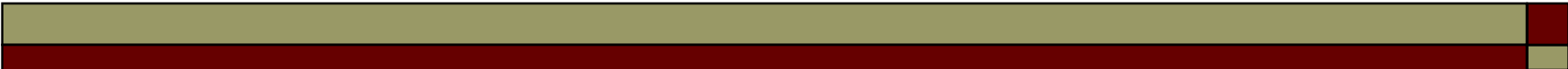
**STUDII PRIVIN CARACTERIZAREA MICROORGANISMELOR UTILIZATE ÎN
PROTECȚIA PLANTELOR ȘI ÎN BIOREMEDIERE**

PROIECT DE DIPLOMĂ

CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC:
CONF. DR. IRINA GREBENIȘAN

STUDENT:
MIHAELA PIELEANU

BUCUREȘTI
2009



UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRONOMICE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ BUCUREȘTI
FACULTATEA DE ÎMBUNĂTĂȚIRI FUNCIARE
ȘI INGINERIA MEDIULUI
SPECIALIZAREA
PROTECȚIA MEDIULUI ÎN AGRICULTURĂ

**SISTEME DE PROTECȚIE INTEGRATĂ
FAȚĂ DE FUZARIOZĂ LA GRÂU**

PROIECT DE DIPLOMĂ

CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC:
CONF. DR. IRINA GREBENIȘAN

STUDENT:
CORNEL STAN

BUCUREȘTI
2009

UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRONOMICE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ BUCUREȘTI
FACULTATEA DE ÎMBUNĂTĂȚIRI FUNCIARE
ȘI INGINERIA MEDIULUI
SPECIALIZAREA
PROTECȚIA MEDIULUI ÎN AGRICULTURĂ

STUDII DE EVALUARE A RISCULUI ECOTOXICITĂȚII
UNOR BIOFUNGICIDE PE BAZĂ DE BACTERII

PROIECT DE DIPLOMĂ

CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC:
CONF. DR. IRINA GREBENIȘAN

STUDENT:
DUMITRU STOCHIȚĂ

BUCUREȘTI
2009

UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRONOMICE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ BUCUREȘTI
FACULTATEA DE ÎMBUNĂTĂȚIRI FUNCIARE
ȘI INGINERIA MEDIULUI
SPECIALIZAREA
PROTECȚIA MEDIULUI ÎN AGRICULTURĂ

CARACTERIZAREA UNOR TULPINI DE *Bacillus* sp.
CARE PRODUC METABOLIȚI CU ACȚIUNE ANTIFUNGICĂ

PROIECT DE DIPLOMĂ

CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC:
CONF. DR. IRINA GREBENIȘAN

STUDENT:
ELENA RĂUȚU

BUCUREȘTI
2009

4. Dificultăți întâmpinate în derularea proiectului (științifice și /sau administrative)

- Întârzierea efectuării plăților aferente anului 2008.
- Inexistența unui centru național pentru colecții de culturi de microorganisme.