

CZU: 631.461.5:631.524.82

DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.5681336>**BACTERII SIMBIOTROF-FIXATOARE DE AZOT CU DIVERSE ÎNSUȘIRI**

**Vasile TODIRAȘ, Maria MELNIC*, Svetlana PRISACARI,
Angela LUNGU, Ștefan RUSU*, Dumitru ERHAN***

*Institutul de Microbiologie și Biotehnologie
Institutul de Zoologie

A fost studiat efectul stimulator al bacteriilor de nodozități din genul *Rhizobium* asupra creșterii, dezvoltării și productivității plantelor de tomate și castraveți. S-a stabilit că tratarea semințelor cu metaboliții bacteriilor în concentrații optime (1:300; 1:500) stimulează creșterea și acumularea de masă uscată a plantelor. De asemenea, s-a investigat și efectul bacteriilor asupra nematodelor fitoparazite – *Ditylenchus destructor*.

Cuvinte-cheie: bacterii, nematode, nodozități, metaboliți, germinare, plante, productivitate, recoltă.

NITRO-FIXING SYMBIOTROPHIC BACTERIA WITH DIFFERENT CHARACTERISTICS

The stimulatory effect of the nodule bacterium *Rhizobium* on the growth, development and productivity processes in tomato and cucumber plants was studied. It has been established that treating seeds with bacterial metabolites in optimal concentrations (1:300; 1:500) stimulates the growth and accumulation of dry mass of plants. The effect of bacteria on phytoparasitic nematodes – *Ditylenchus destructor* – was also investigated.

Keywords: Bacteria, nematodes, nodules, metabolites, germination, plants, productivity, harvest.

Introducere

Este bine cunoscut faptul că bacteriile de nodozități în simbioză cu plantele leguminoase au însușirea de a fixa azotul atmosferic, însă ele au și alte capacități: de a sintetiza substanțe biologice active de tipul auxinelor, giberelinelor, citochininelor și altele, accelerând astfel procesele de creștere și dezvoltare a plantelor. Activitatea vitală a bacteriilor de nodozități din genul *Rhizobium*, precum și a altor genuri de bacterii, este strâns legată de sistemul radicular al plantelor leguminoase, însă interes prezintă relația nespecifică a bacteriilor din genul *Rhizobium* cu sistemul radicular al altor plante neleguminoase și influența lor asupra proceselor de creștere, dezvoltare și asupra productivității.

Investigațiile efectuate de mai mulți savanți arată că bacteriile de nodozități au capacitatea de a produce stimulatori de creștere, care influențează dezvoltarea plantelor de tomate, porumb, grâu, lăptucă, cartofi etc. [1-4,17]. Astfel, în procesul de investigare cu utilizarea bacteriilor simbiotrofe *Sinorhizobium meliloti* la plantele de lăptucă s-a observat că cele tratate au o creștere și o dezvoltare cu mult mai bună decât cele din varianta martor (netratate) [3]. În alte experimente s-a demonstrat că bacteriile de nodozități, în afară de creștere și dezvoltare a plantelor, au proprietatea de a spori și productivitatea lor. Oamenii de știință indieni, lucrând cu bacteriile de nodozități din genul *Rhizobium*, iar ca plantă gazdă folosind diferite soiuri de grâu, au stabilit că inocularea semințelor de grâu, soi Pitic, cu tulpinile de *Rhizobium japonicum* (tulpina 631) și *Rhizobium glicine* (tulpina 464) a favorizat creșterea plantelor și a sporit masa uscată – cu 47,1%, iar recolta de boabe a crescut cu peste 43,0% [5,6]. Bacteriile din genul *Rhizobium* au o importanță economică semnificativă în protecția recoltelor de către patogenii din sol, inclusiv nematodele parazite [7,8]. În Republica Moldova prin răspândire și nocivitate se remarcă nematoda *Ditylenchus destructor* Thorne, 1945 – endoparazit obligatoriu la culturile de *Solanum tuberosum*, care provoacă pierderi de recoltă de 25-45%, în special în perioada de păstrare [9,10]. Este o specie destul de periculoasă pentru cultura cartofului, inclusă de către Organizația Europeană de Protecție a Plantelor (EPP) în Lista Europeană a Speciilor de Nematode de Carantină.

În conformitate cu cele expuse, scopul investigațiilor din prezenta lucrare a fost de a testa tulpinile din genul *Rhizobium*, și anume: *Rh. japonicum* RD2, *Rh. japonicum* 646a, *Rh. phaseoli* F1, *Rh. meliloti* 19k și *Pseudomonas* sp. Pc4, și de a stabili efectul acestora asupra germinării semințelor, creșterii și productivității plantelor de tomate și castraveți, precum și de a demonstra utilizarea lor în controlul biologic al nematodelor parazite la culturile legumicole de importanță primordială pentru republică, printre care cultura cartofului.

Material și metode

În calitate de obiecte pentru investigații au servit bacteriile de nodozități din genul *Rhizobium*, izolate de pe rădăcinile plantelor de soia, nematodele din genul *Ditylenchus*, izolate din cartofii de soi Roko, iar ca plante gazde au fost tomatele, castraveții, cartofii ș.a. În scopul verificării activității stimulative a metaboliților bacteriilor simbiotrof-fixatoare de azot au fost montate experiențe în condiții de laborator, în cutii Petri și în vase cu sol nesteril [11]. Activitatea stimulative a bacteriilor de nodozități s-a determinat conform metodelor aprobate [12,13]. Gradul de stimulare s-a determinat reieșind din acțiunea bacteriilor asupra capacității germinative a semințelor, proceselor de creștere, dezvoltare și productivitate a plantelor [12]. Pentru testarea nematodelor fitoparazite s-au folosit lichidele culturale ale bacteriilor obținute în rezultatul cultivării în condiții de agitare [14]. Extragerea nematodelor din țesutul vegetal s-a efectuat cu aplicarea pâlniilor Baermann. Pentru experiențe au fost selectați sub microscop, cu acul entomologic steril, indivizii maturi (femele, masculi) din specia *D. destructor*. Testarea s-a efectuat prin metoda de contact [15] la temperatura de 23-27°C. Eficacitatea contactului s-a evaluat la diferite intervale de timp, inclusiv 24, 48 și 72 ore, și 7-14 zile.

Prelucrarea datelor experimentale s-a efectuat după B.Dospehov [16].

Rezultate și discuții

Bacteriile de nodozități, izolate și selectate anterior, au fost cercetate în experiențe cu plantele de tomate și castraveți, scopul fiind studierea influenței acestora asupra creșterii și dezvoltării plantelor. Pentru testarea bacteriilor simbiotrofe din genul *Rhizobium* s-au folosit semințele de tomate de soi Prut și de castraveți de soi Concurrent, care au fost tratate cu metaboliții bacteriilor de nodozități. În procesul de testare au fost utilizate diverse concentrații ale acestora (1:50, 1:100, 1:200, 1:300, 1:500, 1:1000). Prelucrarea semințelor cu metaboliții bacteriilor simbiotrofe a condus la majorarea cantității de masă uscată a plantulelor, însă aceștia mai slab au acționat asupra procesului de germinare a semințelor (Tab.1).

Tabelul 1

Influența metaboliților tulpinilor de bacterii simbiotrof-fixatoare de azot *Rhizobium japonicum* RD2 și *Rhizobium japonicum* 646a asupra capacității germinative a semințelor de tomate, castraveți și acumulării de masă uscată a plantulelor (exp. de laborator, cultivarea în cutii Petri)

Varianta	Diluția metaboliților	Capacitatea germinativă a semințelor		Masa uscată a plantulelor	
		%	Adaos, %	M ± m, g	Adaos,%
Inocularea semințelor de tomate, soi Prut					
Martor (apă)	-	90,0	-	0,653±0,04	-
<i>Rhizobium japonicum</i> 646a	1:500	92,0	2,0	0,718±0,05	9,9
<i>Rhizobium japonicum</i> RD2	1:300	95,0	5,0	0,842±0,06	28,9
Inocularea semințelor de castraveți, soi Concurrent					
Martor (apă)	-	80,0	-	0,750±0,02	-
<i>Rhizobium japonicum</i> 646a	1:300	88,0	8,0	0,839±0,03	11,8
<i>Rhizobium japonicum</i> RD2	1:500	92,0	12,0	0,897±0,02	19,6

Notă: În tabel au fost incluse concentrațiile optime ale bacteriilor cu efect pozitiv.

Conform datelor obținute, s-a stabilit că metaboliții produși de bacteriile de nodozități influențează cel mai mult asupra acumulării de masă uscată și mai puțin influențează capacitatea germinativă a semințelor la tomate, însă la castraveți sporește atât capacitatea germinativă a semințelor, cât și masa uscată a plantulelor. După indicii de acumulare a biomasei uscate s-a evidențiat tulpina de bacterii de nodozități *Rhizobium japonicum* RD2, care a stimulat acumularea de masă uscată a plantulelor – cu 19,6-28,9%, iar capacitatea germinativă a semințelor – cu 5,0-12,0% față de martor.

În paralel cu experiențele expuse (în cutii Petri) s-au făcut investigații și în vase cu sol nesteril (experimente vegetative), unde bacteriile și plantele se aflau în condiții apropiate de cele din câmp. Ca plantă gazdă s-au folosit tomatele și castraveții, soiurile Prut și Concurrent, iar în calitate de bacterii simbiotrofe tulpinile *Rhizobium japonicum* 646a și *Rhizobium japonicum* RD2. Rezultatele obținute sunt prezentate în Tabelul 2.

Tabelul 2

Influența metaboliților tulpinilor de bacterii simbiotrof-fixatoare de azot *Rhizobium japonicum* RD2 și *Rhizobium japonicum* 646a asupra creșterii și dezvoltării plantelor de tomate (exp. vegetativă de laborator, date medii la o plantă)

Varianta	Înălțimea plantelor		Lungimea rădăcinilor		Masa uscată a plantelor	
	cm M ± m	Adaos,%	cm M ± m	Adaos,%	g M ± m	Adaos,%
Inocularea semințelor de tomate, soi Prut						
Martor	36,1±5,09	-	13,3±3,27	-	1,47±0,28	-
<i>Rh.japonicum</i> 646a	38,4±8,47	6,4	14,9±4,87	12,1	1,63±0,12	3,8
<i>Rh. japonicum</i> RD2	39,5±7,21	9,4	16,3±3,19	22,6	1,72±0,11	17,0
Inocularea semințelor de castraveți, soi Concurrent						
Martor	28,4±6,07	-	14,1±2,62	-	1,33±0,13	-
<i>Rh.japonicum</i> 646a	31,7±2,96	11,6	14,6±1,31	3,5	1,42±0,11	6,8
<i>Rh. japonicum</i> RD2	35,6±8,24	25,3	16,1±1,67	14,2	1,62±0,12	21,8

Prin analiza rezultatelor obținute s-a stabilit că tulpina simbiotrofă *Rhizobium japonicum* RD2 a fost cea mai eficientă și a favorizat creșterea și productivitatea plantelor de tomate și a celor de castraveți.

Cercetările efectuate de colaboratorii laboratorului Parazitologie și Helminnologie al Institutului de Zoologie al MEC au demonstrat că, dintre speciile de bacterii experimentate din genul *Rhizobium*, prin eficacitate sporită s-a deosebit specia *Rhizobium japonicum*. Tulpinile de *Rhizobium japonicum* RD2 și 646a, au exercitat acțiune letală asupra speciei *Ditylenchus destructor* în proporții de 70-80% prin expunere timp de 24 ore; 90-92% – de 48 ore și 95-98% – de 72 ore (Fig.1). Tulpina de *Rh. phaseoli* F1 a cauzat mortalitatea nematodelor de 82% la un interval de timp mai îndelungat – 72 ore, iar *Rh. meliloti* 19k nu a manifestat acțiune. Tulpinile de *Rh. japonicum* RD2 și 646a după un contact de 7-12 zile au exercitat acțiune distructivă asupra organelor interne ale nematodelor parazite – intestin, ovar, oviduct, care s-au deformat completamente, transformându-se într-o masă omogenă. În procesul experiențelor s-au deosebit prin eficacitate sporită tulpina *Pseudomonas* sp. Pc4, care a provocat mortalitatea nematodelor parazite de 90% – timp de 24 de ore și de 95-100% – timp de 48-72 de ore. Spre deosebire de tulpinile de *Rh. japonicum*, tulpina *Pseudomonas* sp. Pc4, la un timp mai îndelungat de contact cu *D. Destructor* – 7-12 zile, a provocat o distrugere totală nu doar a organelor interne ale nematodelor, dar și a cuticulei. În suspensiile experimentale la microscop au fost observate rămășițe ale nematodelor.

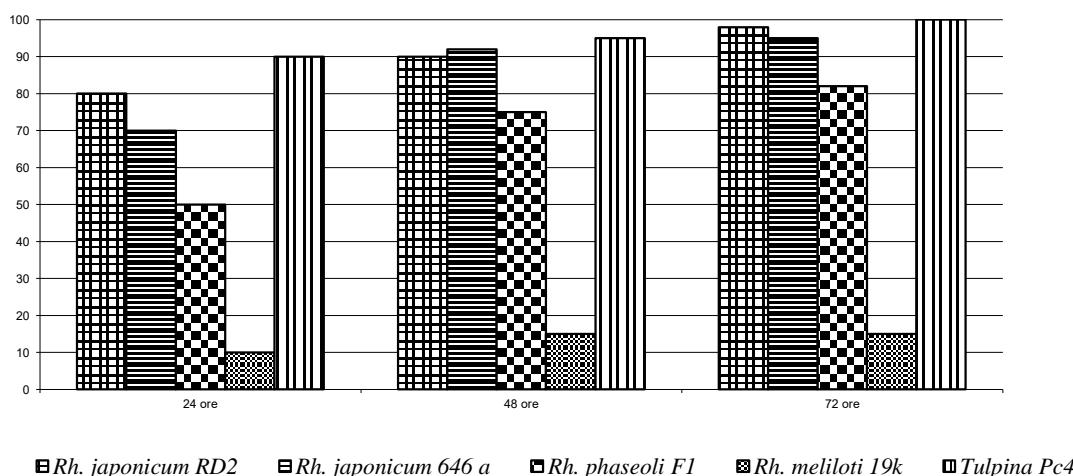


Fig.1. Mortalitatea (%) nematodelor *Ditylenchus destructor* în contact cu bacteriile.

Concluzii

1. Metaboliții bacteriilor simbiotrof-fixatoare de azot *Rhizobium japonicum RD2* au capacitatea de a spori germinarea semințelor de tomate și de castraveți cu, respectiv, 5,0-12,0%, iar masa uscată a plantulelor – cu 19,6% la castraveți și, respectiv, cu 28,9% la tomate în condiții de laborator.

2. Tulpinile de bacterii *Rhizobium japonicum RD2* și *646a*, în contact cu specia parazită de nematode *Ditylenchus destructor*, au exercitat acțiune letală în proporții de 70-80%, prin expunere, la un interval de timp de 24 ore; 90-92% – de 48 ore și 95-98% – de 72 ore.

3. Însușirile pe care le posedă tulpinile de bacterii *Rhizobium japonicum RD2* și *Rhizobium japonicum 646a* indică necesitatea efectuării unor investigații mai profunde cu scopul de a obține preparate microbiene cu diverse proprietăți: de fixare a azotului atmosferic, de stimulare a creșterii plantelor leguminoase și cerealiere, și preparate nematocide pentru protecția plantelor de nematodele fitoparazite.

Referințe:

1. ТИЛЬБА, В.Ф., БЕГУН, С.А., ЯКИМЕНКО, М.В. Использование штаммов ризобий сои для стимулирования роста и оздоровления сельскохозяйственных культур. В: *Главный агроном*, 2005, №5, с.10-12.
2. TODIRAȘ, V., ONOFRAȘ, L., PRISACARI, S., LUNGU, A., MOHOVA, T. Efectul bacteriilor simbiotrof fixatoare de azot și cele cu caracter stimulator asupra productivității plantelor. În: *Agricultura durabilă în Republica Moldova: Provocări actuale și perspective*. Bălți: Indigou Color, 2017, p.242-246.
3. GALLEGUILLOS, C., AGUIRRE, C., BAREA, J., AZCON, R. Growth promoting effect of two *Sinorhizobium meliloti* strains (a wild type and its genetically modified derivative) on non-legume plant species in specific interaction with two arbuscular mycorrhizal fungi. In: *Plant Sciences*, 2000, vol.159, p.57-63.
4. ТОДИРАШ, В., МЕЛНИК, М., ПРИСАКАРЬ, С., ОНОФРАШ, Л., ЛУНГУ, А., РУСУ, Ш., ЕРХАН, Д. Клубеньковые бактерии как стимуляторы и средства биологической борьбы для небобовых растений. В: *Studia Universitatis Moldaviae. Seria „Științe reale și ale naturii”*, 2020, nr.6(136). ISSN 1814-3237 ISSN online 1857-498X, p.83-86. DOI: <http://doi.org/10.5281/zenodo.4431633>
5. KAVIMANDAN, S.K. Influence of Rhizobial inoculation on yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). In: *Plant Soil*, 1986, vol.95, no.2, p.297-300.
6. KAVIMANDAN, S.K. Root nodule bacteria to improve yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). In: *Plant Soil*, 1985, vol.86, no.1, p.141-144.
7. SIDDIQUI, Z.A., EHTERSHUMAL-HAQUE, S., ZAKI, M.J. and GAFFAR, A. Effect of brown sea weeds (*Stoechospermum marginatum* and *Sargassum tenerimum*) and rhizobia in control root-knot disease and growth of mungbean. In: *Pak. J. Nematol.*, 1998, no.16, p.145.
8. SIDDIQUI, I.A., EHTESHAMUI-HAQUE, S. et al. Greenhouse evaluation of rhizobia as biocontrol agent of root-infesting fungi in okra. In: *Acta Agrobot.*, 2000, no.53, p.13-22.
9. MELNIC, M., IURCU-STRAISTARU, E., POIARS, L. Effect of potato nematode *Ditylenchus destructor* on the quality of tubers during storage. In: *International conference of zoologists „Actual problems of protection and sustainable use of the animal world diversity”*. Chișinău: Continental Grup SRL, 2011, p.123-125.
10. MELNIC, M., TODERAȘ, I., ERHAN, D., RUSU, Ș., ONOFRAȘ, L., TODIRAȘ, V. *Metode de combatere și profilaxie a nematodelor parazite la cultura cartofului*. Chișinău: Știința, 2014. 40 p.
11. РЯХОВСКИЙ, А.В. *Лабораторные, вегетационные и микроделячные методы исследования полевых культур*. Оренбург: ОГАУ, 2002. 50 с.
12. DIGAT, V. Modes d'action et effets des rhizobactéries promotrices de la croissance et du développement des plantes. In: *Colloq. INRA*, 1983, no.18, p.234-253.
13. ВОЗНЯКОВСКАЯ, Ю.М. *Микрофлора растений и урожай*. Ленинград: Колос, 1969. 240 с.
14. ONOFRAȘ, L., TODIRAȘ, V., MOHOVA, T., PRISACARI, S., LUNGU, A., MELNIC, M., RUSU, Ș. Perspectiva utilizării bacteriilor de nodozități din genul *Rhizobium* în scopul stimulării, creșterii și dezvoltării plantelor cerealiere. În: *Revista „Științele Naturii”*, 2013, nr.16(29), p.97-103.
15. КУРТ, Л.А. Испытание токсичного действия фильтрата культуральных жидкостей хищных и других грибов на некоторых нематод в лабораторных условиях. В: *Бюлл. Всесоюзного ин-та гельминтологии*. Москва, 1973, вып.11, с.61-68.
16. ДОСПЕХОВ, Б.А. *Методика полевого опыта*. Москва: Колос, 1979. 412 с.
17. ЕФРЕМОВА, С.П., ОХЛОПКОВА, П.П. Продуктивность семян картофеля в зависимости от применения клубеньковых бактерий и биогумуса в условиях Якутии. В: *Сиб. с/х науки*, 2008, №10, с.129-136.

Date despre autori:

Vasile TODIRĂȘ, doctor în științe agricole, conferențiar cercetător; LCȘ *Microbiologia Solului*, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al MEC.

E-mail: todiras.v@mail.ru

Maria MELNIC, doctor în științe biologice, conferențiar cercetător; LCȘ *Parazitologie și Helmintologie*, Institutul de Zoologie al MEC.

E-mail: Mariamelnic232@gmail.com

Svetlana PRISACARI, cercetător științific; LCȘ *Microbiologia Solului*, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al MEC.

Angela LUNGU, cercetător științific; LCȘ *Microbiologia Solului*, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al MEC.

Ștefan RUSU, doctor în științe biologice, conferențiar cercetător; LCȘ *Parazitologie și Helmintologie*, Institutul de Zoologie al MEC.

E-mail: rusus1974@yahoo.com

Dumitru ERHAN, doctor habilitat în științe biologice, profesor cercetător; LCȘ *Parazitologie și Helmintologie*, Institutul de Zoologie al MEC.

E-mail: dumitruerhan@yahoo.com

Prezentat la 17.08.2021