

EFFECTUL BACTERIILOR SIMBIOTROF FIXATOARE DE AZOT ȘI CELOR CU CARACTER STIMULATOR ASUPRA PRODUCTIVITĂȚII PLANTELOR DE SOIA

Todiraș Vasile, Onofraș Leonid, Prisacari Svetlana, Lungu Angela, Mohova Tatiana, Zuza Nuvela, *Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM*

En conditions de laboratoire et de terrain ont été testées bactéries ayant la capacité stimulant ou d'azotofixator. Par conséquence de la recherche on a établi leur efficacité a l'égard de la croissance, le développement et la fixation d'azot atmospherique dans les plantes de soja selon la facon d'utilisation.

Laboratory and field conditions have been tested for nitrogen-stimulating and stimulating bacteria. As a result of their research, their effectiveness on the growth, development and fixation of atmospheric nitrogen in soybean plants was determined, depending on how they were used.

Key words: *Bacteria, soy, crop, productivity, nitrogen, stimulation.*

INTRODUCERE

Una din sarcinile principale ale științei agricole și microbiologice este rezolvarea problemei fertilității solului și productivității plantelor. Prin cercetările efectuate până în prezent s-a dovedit că microorganismele prezintă unul din factorii principali ai fertilității solului creșterii și dezvoltării plantelor. Microflora solului și, în special, acea parte a ei, care se dezvoltă în jurul rădăcinilor, acționează direct asupra creșterii și dezvoltării plantelor. Aceste microorganisme îndeplinesc diverse funcții în dependență de particularitățile lor proprii și a plantei gazdă. Unele sunt capabile de a optimiza fertilitatea solului dizolvând partea minerală a lui și eliberând o parte din elementele nutritive în forme accesibile pentru plante [1, 2]. Alte microorganisme au însușirea de a produce bioreglatori de creștere de tipul auxinelor, citochininelor, giberelinelor, prin intermediul cărora pot stimula procesele de creștere și dezvoltare a plantelor [3, 4, 5]. În sol există și microorganisme care pot să favorizeze aprovizionarea plantelor cu elementele necesare pe cale simbiotică (gen - *Rhizobium*) sau nesimbiotică (genurile *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Arthrobacter* etc.) [6,7]. Tot în aceste zone microorganismele își găsesc condițiile favorabile pentru a-și manifesta capacitățile lor de a proteja sistemul radicular al plantei, servind totodată ca remediu de distrugere a agenților fitopatogeni sau de diminuare a activității lor distructive [8, 9].

Este stabilit că pot contribui la sporirea recoltelor diverse metode cum ar fi: bacterizarea semințelor înainte de semănat, introducerea preparatelor microbiene în sol, stropirea solului cu preparate microbiene (lichide) și încorporarea ulterioară a semințelor în sol [10, 11].

Reieșind din cele expuse **scopul investigațiilor** pe care le-am întreprins a fost de a testa unele tulpini de bacterii izolate din rizosfera/rizoplana soiei pentru a stabili eficacitatea lor asupra proceselor de creștere, dezvoltare și productivitate a plantelor și metodele de utilizare a lor.

MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

În calitate de obiecte microbiologice de cercetare au servit tulpinile bacteriilor de nodozități *Rhizobium japonicum* 646a (etalon), *Rh.japonicum* RD2 și bacteriile stimuloare *Pseudomonas* sp. BȘSg și *Azotobacter* sp.RRA8, izolate de colaboratorii laboratorului Fitomicrobiologie din rizosfera plantelor de soia, iar ca material semincer s-au folosit semințele de soia ale soiurilor Aura și Zodiak.

În scopul verificării prin comparare a eficacității bacteriilor respective au fost montate experiențe în condiții de laborator, în vase cu sol nesteril și experiențe în condiții de câmp.

Pentru montarea experiențelor vegetative de laborator a fost folosită următoarea schemă:

1. Martor - semințe netratate.
2. Tulpina 646a (etalon) - *Rhizobium japonicum* (azotofixator) - bacterizarea semințelor.
3. RD2 - *Rhizobium japonicum* (azotofixator) - bacterizarea semințelor.
4. RRA8 - *Azotobacter* sp. (stimulator) - înmuierea semințelor în produsele metabolice.
5. BȘSg - *Pseudomonas* sp. (stimulator) - înmuierea semințelor în produsele metabolice.

6. RRA8 + RD2 - înmuierea semințelor timp de 1 oră în metaboliții tulpinii RRA8 și bacterizarea ulterioară cu tulpina RD2.

7. BȘSg + RD2 - înmuierea semințelor timp de 1 oră în metaboliții tulpinii BȘSg și bacterizarea ulterioară cu tulpina RD2.

8. AS - asociație alcătuită din 2 bacterii: Rh. japonicum RD2 (fixatore de azot) și Pseudomonas sp. RD5 (stimulator).

Experiențele au fost efectuate în 3 repetiții.

În condiții de câmp pe teritoriul *Bazei Științifice Experimentale a AȘM* experiența a fost integral montată după aceeași schemă în 3 repetiții. Pe câmpul de testare a culturilor agricole ce aparține *Ministerului Agriculturii și Industriei alimentare a RM* (s. Băcioi). în experiență numărul de variante a fost redus până la patru. Aici experiențele de asemenea au fost puse în 3 repetări conform următoarei scheme:

1. Martor - semințe netratate.
2. Bacterizarea semințelor cu bacterii de nodozități Rh. japonicum RD2 (titrul - 6 mlrd cel/ml).
3. Înmuierea semințelor înainte de semănat în metaboliții bacteriei RRA8 timp de o oră.
4. Înmuierea semințelor înainte de semănat în metaboliții bacteriei RRA8 timp de o oră și bacterizarea lor ulterioară cu bacteria Rh. japonicum RD2.

În fazele de îmbobocire și înflorire a soiei s-au luat probe pentru determinarea acumulării biomasei brute și uscate, cantității și masei nodozităților formate. Activitatea procesului de fixare a azotului de către complexul bacterio-radicular s-a determinat prin metoda acetilenică la cromatograful „Chrom - 5” în conformitate cu metoda recomandată [12]. Rezultatele experiențelor s-au prelucrat conform metodei Stewdent.

REZULTATELE OBȚINUTE

Experiențe vegetative de laborator

Experiențele s-au efectuat în condiții de cameră cu climă artificială la temperatura de 20-24°C, umiditatea solului - 60-80% și iluminarea de zi. Durata experienței - 30 zile. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul 1.

Tabelul 1. *Influența bacteriilor stimuloare asupra proceselor de creștere și dezvoltare a plantelor de soia. Experiență vegetativă de laborator*

Varianta	Înălțimea plantelor, cm $M \pm m$	Adaos %	Lungimea rădăcinilor, cm $M \pm m$	Adaos %	Masa brută a plantelor, g. $M \pm m$	Adaos %	Masa Uscată a plantelor g. $M \pm m$	Adaos %
Martor	42,2 ± 0,9	-	21,1 ± 2,0	-	3,95 ± 0,3	-	0,33 ± 0,1	-
RRA8	41,2 ± 0,7	-	21,0 ± 3,5	-	3,87 ± 0,6	-	0,34 ± 0,1	4,1
RRA8+ RD2	39,4 ± 3,2	-	20,2 ± 3,1	-	3,77 ± 0,3	-	0,38 ± 0,1	16,3
RD2	40,8 ± 0,8	-	23,0 ± 3,1	9,1	3,82 ± 0,2	-	0,35 ± 0,1	6,1
646a -etalon	39,8 ± 4,2	-	21,5 ± 1,1	2,0	3,78 ± 0,5	-	0,32 ± 0,1	-
BȘSg	43,1 ± 1,8	2,2	26,8 ± 6,2	26,9	3,89 ± 0,4	-	0,37 ± 0,1	14,3
BȘSg+RD2	43,8 ± 4,2	3,9	22,7 ± 3,2	7,7	4,33 ± 0,8	9,7	0,32 ± 0,1	-
As	42,0 ± 3,0	-	23,9 ± 2,0	-	4,53 ± 0,1	14,8	0,39 ± 0,1	18,4

În condițiile de efectuare a experienței înălțimea plantelor s-a majorat numai cu 2,0-3,9% față de martor. Rădăcinile au devenit mai lungi cu până la 26,9%. S-a obținut un spor de masă brută și uscată (respectiv 9,7-14,8 și 4,1-18,4%). Sub aspectul menționat s-au evidențiat variantele BȘSg, RRA8 + RD2 și asociația de bacterii. Tendințe pozitive, dar mai mici, au fost semnalate și în varianta RD2.

Referitor la modalitatea de utilizare a bacteriilor experimentate poate fi făcută concluzia că bacterizarea semințelor a avut o oarecare prioritate față de celelalte variante.

2. Experiențe în condiții de câmp

Drept urmare a scopului cercetărilor au fost montate două experiențe și în condiții de câmp: una - pe teritoriul *Bazei experimentale a AȘM* și alta - pe câmpul de testare a culturilor agricole ce aparține *Ministerului Agriculturii și Industriei alimentare a RM* (s. Băcioi). Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul 2.

Tabelul 2. *Influența bacteriilor de rizosferă asupra creșterii plantelor, acumulării de biomasă și activității azotofixatoare la soia, soiul Aura (experiență de câmp, BEASM)*

Varianta	Înălțimea plantelor, medie, cm M±m	Adaos %	Masa uscată a plantelor, medie, g. M±m	Adaos, %	Fixarea N ₂ atmosferic, mkg N ₂ /pl./oră	Adaos, %
Martor	92,0±5,7	-	44,4 ± 6,9	-	134,38	-
646a	95,6±7,7	3,8	41,1 ± 9,1	-	157,77	17,4
RD2	95,8±4,6	4,1	51,3 ± 3,5	15,7	172,53	28,4
BȘSg	90,8±5,3	-	58,6 ± 10,1	32,1	128,47	-
RRA8	94,8±8,6	2,9	47,0 ± 6,9	6,0	102,79	-
BȘSg + RD2	95,1±3,5	3,3	48,9 ± 11,2	10,3	127,00	-
RRA8+RD2	88,0±9,1	-	50,3 ± 5,3	13,4	174,67	30,0
AS	92,4±2,7	0,4	36,6 ± 6,4	-	95,56	-

Din datele obținute reiese că cel mai bine a influențat procesul de acumulare a masei uscate tulpina cu caracter stimulator - *Pseudomonas* sp. BȘSg măbind acest indice cu 32,1% - fiind urmată de tulpina *Rhizobium japonicum* RD2 (azotofixatoare) - cu 15,7% și varianta RRA8+RD2-(bacterie stimuloare + bact. azotofixatoare). Tulpina-etalon (646a) a demonstrat un rezultat chiar mai jos decât în martor. După activitatea azotofixatoare a sistemului rizobio-bacterian se evidențiază varianta RRA8+RD2 cu o capacitate de fixare a azotului mai mare cu 30% decât a martorului absolut și tulpina RD2 - cu 28,4%. Datele referitor la formarea păstăilor și recoltei de boabe sunt reflectate în tabelul 3.

Tabelul 3. *Influența bacteriilor de rizosferă asupra formării păstăilor și a recoltei de boabe la soia (Experiență de câmp, Baza Exp. a AȘM)*

Varianta	Total păstăi, buc. M±m	Adaos, %	Păstăi valoroase, buc. M±m	Adaos, %	Recolta, g M±m	Adaos, %
Martor	221,50±121,9		204,25±120,1	-	45,67±6,2	-
646a	259,00±11,2	16,9	228,25±21,7	11,8	56,86±13,7	24,5
RD2	344,25±42,4	55,4	301,50±22,9	47,6	71,93±7,0	57,5
BȘSg	288,25±21,6	30,1	231,50±20,8	13,3	48,06±7,1	5,2
RRA8	321,00±77,5	44,9	282,00±65,2	38,2	66,03±20,8	44,6
BȘSg+RD2	212,00±72,2	-	164,25±57,1	-	40,96±13,6	-
RRA8+RD2	161,50±26,2	-	138,50±17,1	-	34,25±8,5	-
AS	269,25±39,7	21,6	236,25±47,7	15,7	71,46±19,4	56,5

Rezultatele obținute în majoritatea variantelor sunt mai înalte față de martor în afară de variantele unde semințele au fost înmuiate în produsele metabolice ale bacteriilor stimuloare cu bacterizarea lor ulterioară (RRA8+RD2 și BȘSg+RD2). Din datele obținute reiese că tratarea semințelor numai prin metoda bacterizării a contribuit la formarea unui număr mai mare de păstăi și în special celor valoroase, fapt ce a acționat pozitiv asupra formării recoltei de boabe.

Pentru verificarea prin comparare a eficacității bacteriilor respective a fost montată o experiență pe câmpul de testare a culturilor agricole (s. Băcioi). În experiență s-a făcut evaluarea capacității tulpinilor bacteriilor azotofixatoare *Rh. japonicum* RD2 și celor stimuloare *Azotobacter chroococcum* RRA8 de a influența asupra proceselor creșterii și dezvoltării plantelor, acumulării de biomasă, fixării azotului atmosferic și recoltei de boabe. Datele referitoare la procesele de creștere, dezvoltare și productivitate sunt incluse în tab. 4, 5.

Tabelul 4. Influența bacteriilor de rizosferă asupra creșterii plantelor și acumulării de biomasă la soia, soiul Zodiac. (Experiență în condiții de câmp, s. Băcioi)

Varianta	Înălțimea Plantelor		Masa brută la 5 plante		Masa uscată la 5 plante		Fixarea N2 atmosferic mkg N2/pl/oră
	cm, M±m	Adaos %	g, M±m	Adaos %	g, M±m	Adaos %	
Martor	61,5±2,3	-	127,8±11,4	-	37,4±2,9	-	12,13
RD2 (bacterizarea semințelor)	71,1±1,1	15,6	136,7±19,7	7,0	44,1±2,1	17,9	250,26
RRA8 (înmuierea semințelor în metaboliți)	72,0±0,9	17,1	157,5±3,0	23,2	43,2±2,9	15,5	139,06
RRA8+RD2	63,3±0,2	2,9	83,5±2,8	-	39,0±4,4	4,3	167,62

Din datele obținute reiese că plantele tratate cu tulpina RRA8 au acumulat cea mai mare masă brută (157,5 g), tulpina RD2 - 136,7 g, iar combinația tulpinilor RRA8+RD2 a acumulat numai 83,5 g. cantitate cu mult mai mică decât în martor. În ceea ce privește masa uscată, apoi cea mai mare cantitate s-a acumulat în plantele bacterizate cu tulpina RD2 - 44,1 g, au urmat plantele tratate cu tulpina RRA8 - 43,2 g. Varianta RRA8+RD2 și varianta martor au acumulat cele mai mici cantități e masă uscată (39,0 g și respectiv 37,4 g).

În rezultatul analizei gaz-cromatografice s-a stabilit că activitatea azotofixatoare a tulpinei Rh. japonicum RD2 a fost de 20 ori mai mare decât în martorul absolut, de 1,9 ori față de tulpinile RRA8 și de 1,5 ori față de combinația RRA8+RD2. În faza de coacere deplină a plantelor de pe fiecare parcelă au fost colectate câte 10 plante pentru aprecierea structurii recoltei. Datele obținute sunt incluse în tabelul 5. Tabelul 5. Structura recoltei de soia soiul Zodiac. Experiență în condiții de producere (s. Băcioi). /Date medii la 10 plante/

Varianta	Total păstăi, buc. M±m	Adaos %	Păstăi valoroase, buc. M±m	Adaos %	Recolta, g. M±m	Adaos %
Martor (semințe netratate)	329,5±2,41	-	300,5±3,9	-	76,24±7,46	-
RD2 (bacterizarea semințelor.)	380,5±51,5	15,5	352,5±47,6	17,3	93,35±13,4	22,4
RRA8 (înmuierea semințelor în metaboliți)	352,6±24,8	7,0	316,1±20,8	5,2	85,71±11,1	12,4
RRA8+RD2 înmuierea semințelor în metaboliții RRA8 și bacterizarea cu RD2)	346,0±26,1	5,0	308,3±23,9	2,7	83,23±9,2	9,2

Rezultatele obținute prin analiza structurii recoltei demonstrează caracterul benefic al tratării semințelor înainte de semănat cu microorganisme azotofixatoare și cele cu capacități de stimulare. Apreciate din punct de vedere al efectului cantitativ (procentual) pe primul loc se află bacterizarea cu tulpina azotofixatoare Rh. japonicum RD2, pe locul 2 - tratarea semințelor cu metaboliții bacteriei RRA8, iar pe locul 3 - tratarea semințelor cu metaboliții bacteriei stimuloare RRA8 și bacterizarea ulterioară cu RD2.

Această experiență, efectuată în condiții de producere, a confirmat efectul pozitiv (al rezultatelor experiențelor precedente) de tratare a semințelor de soia înainte de semănat cu bacterii de nodozități (tulpina Rhizobium japonicum RD2), bacterii stimuloare RRA8 și modul lor de utilizare.

S-a ajuns la concluzia că eficacitatea a fost mai mare în variantele unde s-a folosit bacterizarea semințelor înainte de semănat și mai mic în cazul înmuiierii lor în soluțiile metabolice.

Bibliografie:

1. Кожемяков, А.П.; Тихонович, И.А. *Использование инокулянтов бобовых и биопрепаратов комплексного действия в сельском хозяйстве*. В: Докл. Россельхозакадемии. Москва, 1998, № 6, с. 7-18.
2. Onofraș, L.; Todiraș, V.; Prisacari, S. *Eficacitatea și perspectiva utilizării microorganismelor de rizosferă*. În: Bul. al AȘ a Moldovei. Șt. biol., chim. și agr., 2003, nr. 2 (291), p. 108-111.
3. Тодираш, В.Т.; Присакаръ, С.И.; Онофраш, Л.Ф.; Мельник, М.В. *Ростстимулирующие действие микроорганизмов на растения сои*. В: Всероссийский симпозиум с международным участием «Биологически активные вещества микроорганизмов прошлое, настоящее, будущее». Москва, 2011, с. 118.
4. Costacurta, A.; Vanderleyden, J. *Synthesis of phytohormones by plant-associated bacteria*. In: Critical Rew. Microbiol., 1995, 21, pp. 1-18

5. Voloscov, M.; Onofraș, L.; Todiraș, V. *Bacterii sintetizante a substanțelor biologice active din grupul compușilor indolici*. Deponat la I.C.Ș.I.T.E. din Moldova. Cert. Nr. 1568-M, 1998. 6 p.
6. Onofraș, L., Todiraș, V., Prisacari, S., Mohova, T. *Preparate biologice pentru nutriția cu azot a plantelor leguminoase*. Bul. Informativ, 2013. 10 p.
7. Васюк, Л.Ф.; Хотянович, А.В. *Использование препаратов ассоциативных азотфиксирующих бактерий для обработки семян кормовых злаковых трав*. В: Лен. Межотр. Тер. Центр. НТИ. Информационный лист, 1987, с. 831-887.
8. Чеботарь, В.К.; Макарова, Н.М.; Шапошникова, А.И.; Кравченко, Л.В. *Антифунгальные и фитостимулирующие свойства ризосферного штамма *Bacillus subtilis* R.13 продуцента биопрепаратов*. В: Прикладная биохимия и микробиология, 2009, т. 45, № 4, с. 465-469.
9. Кочетков, В.В.; Дубейковский, А.Н.; Боронин, А.М. *Ризосферные псевдомонады для защиты растений от фитопатогенов*. В: Новые направления в биотехнологии. Пущино, 1990, с. 36-37.
10. Onofraș, L.; Mohova, T.; Todiraș, V.; Prisacari, S.; Lungu, A. *Testarea microorganismelor de rizoferă și a unor procedee de utilizare la productivitatea porumbului*. În: Conf. științifică internațională „Rolul agriculturii în acordarea serviciilor ecosistemă și socială”. Vâlți, 2014, p. 396-402.
11. *Способ внесения в почву азотфиксирующих бактерий под бобовые и злаковые культуры*. Патент РФ 950266, 1993. (А.С. 950266, 1982, БИ 30).
12. Hardy, R. et al. *The acetylene-ethylen assay for H₂-fixation laboratory and field evaluation*. In: Plant Physiol., 1968, Vol. 43, n r8, pp. 1185-1207.