

STUDIUL CAPACITĂȚII ANTAGONISTE A UNOR MICROORGANISME DE RIZOSFERĂ FAȚĂ DE AGENȚII FITOPATOGENI AI BOLILOR RADICULARE

V. Todiraș, L. Onofraș

Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM

Bogatei diversități a microorganismelor din rizosfera/rizoplana plantelor de soia îi corespunde și o mare diversitate a funcțiilor pe care ele le îndeplinesc. De rând cu însușirile pozitive ce le au asupra proceselor de creștere și dezvoltare a plantelor unele din ele manifestă caractere patogene provocând diverse boli ce duc la scăderea calității și cantității producției agricole.

Diminuarea acestei calități nefaste ar fi posibilă prin utilizarea microorganismelor antagoniste față de agenții patogeni.

În ultimul timp s-au intensificat cercetările în domeniul microorganismelor ce posedă capacități antagoniste față de agenții patogeni ai plantelor, scopul acestor investigații fiind utilizarea microorganismelor antagoniste în calitate de remediu biologic pentru combaterea bolilor respective.

Conform unor publicații [1,2, 3, 4, 5, 6] multe dintre microorganismele din rizosfera/rizoplana cât și filozofa plantelor sunt antagoniste față de fungii și bacteriile fitopatogene fapt ce poate fi folosit pentru stoparea răspândirii bolilor provocate de ele.

La diverse saloane și simpozioane internaționale se duc discuții despre succesele obținute de savanții microbiologi în privința biocontrolului bolilor la plantele agricole, medicinale, decorative etc. Succese bune în această direcție au fost obținute de cercetătorii Indiei, Chinei, SUA, Franței, Rusiei, Germaniei etc. Cercetările efectuate au dat posibilitatea de a înregistra o activitate antagonistă sporită față de agenții fitopatogeni la mai mult de 10 genuri de bacterii și fungi [7, 8].

Cercetătorii indieni [9] au stabilit că bacteriile izolate din rizosfera orezului (*Pseudomonas putida* și *Ps. fluorescens*) au însușirea de a stopa sau a diminua dezvoltarea micromicetei parazitare *Rizoctonia solani*. În baza acestor bacterii a fost obținut un preparat microbial care cu succes se utilizează la tratarea semințelor înainte de semănat. Datorită utilizării lui gradul de infectare a plantelor cu rizoctonioz a scăzut – cu 18%. Recolta s-a mărit, boabele fiind de o calitate superioară.

Investigațiile efectuate de Smirnov T.A. și al [10] demonstrează că unele bacterii au un spectru larg de diminuare a creșterii și dezvoltării mai multor fungi și bacterii patogene ce provoacă boli la plantele agricole. Folosind în experiențele sale tulpinele *Pseudomonas aureofaciens* B-4117 și *Ps. fluorescens* GR-330 D izolate din rizosfera leguminoaselor autorii menționați au arătat că plantele cresc mai bine, sunt mai rezistente față de putregaiul rădăcinilor provocat de fuzarioze, iar calitatea legumelor este superioară față de cea din martor.

Cercetătorii chinezi au experiență bogată în utilizarea microorganismelor antagoniste. Folosind bacteriile antagoniste *Bacillus subtilis* împotriva agenților patogeni *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum* ei au obținut o diminuare substanțială față de martor în ceea ce privește molipsirea ardeiului și tomatelor, calitatea producției devenind net superioară [11].

S-a stabilit că antagoniștii activi pot acționa efectiv atât asupra microorganismelor fitopatogene din sol cât și celor aflate pe suprafața plantei [12, 13].

Unele tulpini din genul *Azospirillum* au capacitatea de a stopa creșterea bacteriilor *Escherichia coli*, *Ps. aeruginosa*. Un număr important de tulpini din acest gen posedă o activitate înaltă fungicidă. Astfel bacteriile asociate din genul *Azospirillum* sunt folositoare nu numai pentru fixarea azotului, ca sursă de reglare a creșterii, dar și ca sursă de antibiotice ce rețin creșterea fungilor fitopatogeni din genurile *Alternaria*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* și *Thilaviopsis* [13].

Cercetătorii ucraineni au izolat și selectat din rizosfera plantelor legumicole și sfecliei de zahăr mai multe tulpini de *Azotobacter* ce posedă un complex de activități pozitive față de plante datorită unei capacități înalte de azotofixare, de sinteză a vitaminelor grupei B și substanțelor de origine antibiotică. Ei au stabilit că tulpinile de *Azotobacter* au o eficacitate înaltă și pot fi folosite pentru producerea preparatelor ecologic pure pentru

sporirea recoltei și calității producției legumicole și a sfecele de zahăr [14].

Pierderile economice determinate de putrefacția fructelor și legumelor în perioadele de creștere, coacere, recoltare și păstrare a producției provin într-o mare măsură din infectarea lor de diferite microorganisme patogene și în special micromicete. Este cunoscut însă faptul că utilizarea fungicidelor împotriva micromicetelor duce la apariția tulpinilor rezistente ale patogenilor. Astfel, G.Arras, S.Arru [15] au ajuns la concluzia că cea mai bună soluție pentru protecția fructelor este cea în baza microorganismelor posesoare a capacității de antagonism.

P. Nillsen, J. Srensen [16] au izolat din rizosfera orzului 16 tulpini de bacterii antagoniste față de fungii microscopici (*Aphanomyces cochleoides*, *Pytium ultimum* și *Rhizoctonia solani*) paraziți ai unor culturi tehnice. Tulpinile de bacterii identificate aparțineau genului *Bacillus* (*Bac. polymyxa*, *Bac. pumulus* și *Bac. sp.*). În baza lor au fost produse primele partide de preparate, care au fost experimentate la cultura de orz.

Un efect pozitiv a fost obținut în cazul utilizării bacteriei *Bacillus mesentericus* împotriva mucegaiului sfecele de zahăr (agenții patogeni aparținând unui complex de bacterii și fungi). La tratarea rădăcinilor cu bacteriile antagoniste (*Bac. mesentericus*) procentul de îmbolnăvire a scăzut de la 21,4 până la 15,6% [17]. Astfel de rezultate au fost obținute și de F. Newhock [18].

În lupta cu putregaiul la frunzele de salată au fost experimentate câteva specii de bacterii sporulate și fără spori antagoniste față de micromiceta *Botrytis cinerea*. Datorită utilizării antagoniștilor procentul de îmbolnăvire a scăzut considerabil.

Activitatea antagonistă a bacteriilor din rizosfera plantelor față de unii fitopatogeni a fost studiată și de alți savanți [19], care au stabilit că din 67 culturi ce aparțineau diverselor specii de bacterii – 39 (58%) au stopat creșterea și dezvoltarea ciupercii *Verticillium dahliae*, iar 20 (30%) au fost antagoniste față de micromiceta *Fusarium vasinfectum*.

Se consideră că sub influența substanțelor antibiotice eliminate de microorganisme este posibilă protecția biologică de boli, nematozii de sol, dăunători și buruiene cât și biodegradarea pesticidelor sintetice [20, 21, 22].

În plan mondial în scopul menținerii echilibrului ecologic sunt elaborate și recomandate preparate biologice ce au la bază microbi

antagoniști. Astfel au fost elaborate pentru a fi utilizate în agricultură biopreparatele: Alirin B; Bactofit; Bațișpețin BM; Fitosporin; Quantum 4000; Extrasol, etc. [23, 24, 25].

În experiențele efectuate de N. Bojko, G. Ananiko, V. Repin [26] cu cultura de orz și tulpina *Pseudomonas lemoignei* BKM B-6615 s-a stabilit că acest microorganism are un efect stimulator asupra creșterii plantelor, inhibând totodată creșterea și dezvoltarea agenților fitopatogeni *Alternaria radiciana*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani*, *F.sambucinum*, *Helminthosporium sativum*.

Hoteanovici A.V., Temnova O.V., Orlova N.A. și al. [27] au selectat o tulpină de bacterii (*Bacillus subtilis* C-13) care este utilizată pentru protecția plantelor păioase, floarea soarelui, viței de vie de micromicetele fitopatogene, iar plantele legumicole de bacteriile fitopatogene. Proprietatea unor microorganisme de a stopa sau a diminua activitățile negative ale microflorei fitopatogene contribuie la mărirea recoltei culturilor agricole. Astfel, recolta la ovăs în condiții de producere pe o suprafață de 50 ha a sporit față de martor cu 10,8%, la grâu pe aceeași suprafață – cu 33,3%; la orzul de primăvară pe o suprafață de 80 ha – cu 21,7%, la cartofi pe o suprafață de 30 ha adaosul a fost de 60 chint/ha sau (31,6%).

Analiza izvoarelor bibliografice demonstrează o intensificare a cercetărilor științifice de acest gen în ultimii ani. Una din cauzele determinante ale situației create ar putea fi costul mare la pesticide (insecticide, fungicide, erbicide, repelenți etc.), o a doua cauză – gradul mai mare de poluare al acestora.

Reieșind din cele expuse în cadrul colectivului de lucru am inițiat unele investigații în scopul evidențierii tulpinilor de microorganisme antagoniste față de unii agenți patogeni ai plantelor de soia. În primul rând în acest scop au fost studiate bacteriile izolate de noi din rizosfera plantelor de soia și care au fost apreciate ca posesoare a capacității de stimulare a proceselor de germinare, creștere și dezvoltare (tulpinile: RRA8; 1RRr; 1RRa; RD6; VL2as; etc.). S-a folosit în scopul menționat metoda blocurilor de agar, bacteriile fiind cultivate pe mediile agarizate King B; Așbi, iar fungii patogeni – pe malț sau Czapek agarizat. Temperatura de cultivare a fost de 26-28°C. Experiențele s-au făcut în 4 repetiții. Măsurările s-au efectuat în a 2, 3 și 6 zi. Capacitatea antagonistă s-a determinat reieșind din mărirea zonei de inhibare formată în jurul blocurilor de agar (tal. 1).

Tabelul 1. Acțiunea antagonistă a bacteriilor stimuloare asupra agenților patogeni la soia
(Exp. de laborator, a.2007)

Bacterii izolate din zona de rizosferă a soiei	Zona de inhibare, mm				
	Fusarium oxysporum	Fusarium moniliforme	Fusarium gibbosum	Fusarium solani	Verticillium dahliae
<i>1</i>	2	3	4	5	6
RRA8	0	0	-	0	0
1RRr	0	0	0	0	29,3 ± 2,97
1RRa	0	0	0	0	17,8 ± 0,78
VL3a	0	-	-	0	0
RRT10	0	0	0	-	15,8 ± 2,15
RD6	0	-	-	-	19,8 ± 0,59
Tr.căr.	0	0	0	0	0
BȘSr	0	0	0	0	0
RD4	0	0	0	0	0
VL2am	0	0	0	0	0
VL1as	0	0	0	0	0
RD5	0	0	0	0	0
BȘ.tr.r.	0	0	0	0	0
RRAS7	0	-	0	-	18,3 ± 0,75

Astfel, în rezultatul investigațiilor s-a stabilit că bacteriile 1RRr; 1RRa; RRT10; RD6; RRAS7 posedă capacități antagoniste față de *Verticillium dahliae* Kleb., dar sunt inactice față de ceilalți agenți patogeni ce au fost folosiți în procesul de cercetare.

Reieșind din rezultatele obținute s-a făcut concluzia că bacteriile stimuloare din zona de rizosferă a plantelor de soia nu posedă capacități antagoniste față de agenții fitopatogeni a acestei culturi, excepție făcând doar 5 tulpini (1RRr; 1RRa; RRT10; RD6; RRAS7) active în acest sens față de agentul fitopatogen *V.dahliae*.

Bibliografie

1. **Martynova T.A.** Antagonizm necotoryh pochvennyh micromicetov. //Depon. VINITI 29.09.97, nr. 2934-B97. N.Novgorod, 1997 – 7s.

2. **Loginov O. N. i dr.** Oczenka vliyaniya shtammov bakterij – antagonistov roda *Azotobacter* na porazhenie kornevymi gnileami i urozhajnosti posevov iarovoi miagkoi psheniczy. //Sel. biol., ser. biol. rast., 2004, nr.5, s.104.

3. **Abdul Ssalian Dahmuș, Kojemeakin A.P.** Ispol'zovanie asocziativnyh rizobacterii v uluchshenii plodorodia pochv i pitaniya rastenij. // Agrohimia, 2007, Nr. 1, s.57-61.

4. **Howakowska Hanna.** Antagonistic activity of some fungi and actinomycetes against pathogens of damping-off of sugar beet seedlings. // Plant Breed and Seed Sci., 2005, v.52, p.69-78.

5. **Pleban S., Ingel F., Chet I.** Control of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* in the greenhouse using endophytic *Bacillus* spp. // Eur. J. Plant Pathol., 1995, v.101, nr.6, p. 665-672.

6. **Kolomieți Iu. V., Iakovleva L.M., Kleacenko O.L., Vușcienko L.M.** Metabolity bakterij roda *Pseudomonas* kak selektivnyj factor ustojcivosti saharnoj svekly k bakteriozam. // Mikrobiol. J., 2005, t. 67, Nr.6, s.64-72.

7. **Ignatieva S.I., Bagirov S.F.** Antagonisty patogennyh mikroorganizmov filosofery. // Zashhita i karantin rastenij, 1998, Nr.2, s.62.

8. **Gaskins M.N., Albrecht S.L., Hubbell D.H.** Rhizosphera bacteria and their use to increase plant productivity a review. // Agr. Ecosyst. and Environ., 1986, v.12, nr. 2, p.98-116.

9. **Keishnamurthy K., Gnanamanickam S.S.** Biological control of sheath blight of rice: Induction of systemic resistance in rice by plant associated *Pseudomonas* spp. // Cur. Sci. (India). 1997, v.72, nr.5, p.331.

10. **Smirnov T.A. i dr.** Antagonisticheskoe dejstvie dvuh shtammov *Pseudomonas* na fitopatogennye griby i bakterij i perspektivy ih ispol'zovaniya dlya biologiceskoj bor'by s zabolevaniyami rastenij. // Biotehnologiya, 1998, Nr.2, s. 37-43.

11. **Oiu Sixin et al.** Yingyong yu huanjing shenywu xuebao. // Chin J. Appl. and Environ. Biol., 2004, v.10, nr.5, p.655-659.

12. **Ferguson John.** Microorganism in the soil. // Austral. Plants. 1985, v.13, nr.104, p. 161-166.

13. Zaharova M.G., Alimova F.K., Egorov S. Iu. Skrining-mikroorganizmov perspektivnyh dlya biotekhnologii. // *Konf. „Introducczya mikroorganizmov v okruj. sredu. Moskva, 1994, Tez.dokl., M. 1994, s.36.*

14. Antipciuk A.F., Rangelova V.M., Tanțiuenco O.V., Șevcenco A. Vplyv azotobacteria na uroжай ta iakisti țukrevykh bureaktiv. // *Microbiol. J., 1997, t.59, Nr. 4, s. 90-94.*

15. Arras G., Arru S. Mechanism of action of some microbial antagonists against fungal pathogens. // *Ann. microbiol. ed enrimol., 1997, v.47, nr.1, p. 97-120.*

16. Nilsen P., Srensen J. Multitarget and medium independent fungal antagonism by hydrolytic enzymes in pani, *Bacillus polymyxa* and *Bacillus punulus* strains from barley rhizosphere. // *FFMS Ecol., 1997, v. 22, nr. 3, p.183-192.*

17. Kloepper J.W. et al. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. // *Trend in Biotechnology, 1989, v.7, p.39-44.*

18. Newhock F. Microbiological control of *Botrytis cinerea* pers. I. The role of pH changes and bacterial antagonism. // *The Annals of Appl. Biol., 1971, v.38, nr.1.*

19. Mihaleva V.V., Smirnov F.E., Tursuhxodjaev A.S. i dr. Nekotorye kornevye bakterii kak antagonisty fitopatogennyh gribov. // *Agrobiologia, 1965 Nr.1.*

20. Elliot L.F. Kennedy A.C., Young E.L. Biological control of the weed, downy frome using rhizosphere-colonizing pseudomonads. // *Frans. 14th Int. Soil Sci., Kyoto, Hug, 1990, v.3, Commis. 3 – Kyoto, 1990, p.III 205.*

21. Punja Lamir K. Comparative efficiency of bacteria, fungi and yeasts as biological control agents for diseases of vegetable crops. // *Can.J. Plant Pathol., 1997, v.19, nr.3, p.315-323.*

22. Gede E.S., Kosa S.N. Antimicrobial agets produced by *Pseudomonas* strains. // *Acta microbiol. hung., 1991, v.38, nr.3-4, p. 237-238.*

23. Melentev A.I., Usmanov N.I., Loginov O.N. Shtamm bakterij *Bacillus* sp. dlya poluceniya preparata protiv gribnyh vobuditelej boleznej zlakovyh kul'tur. // *Patent 1743019. RU, Opublik. 23.03.93. Biul. 1.*

24. Cebotari V.K., Iu. GUM Kang. Shtam bakterij *Bacillus* spp. KR-083 v kachestve sredstva dlya zashchity rastenij ot fitopatogennyh mikroorganizmov i stimuleaczii ih rosta. // *Pat. 2295562. RU. Opubl. 20.03.07. Biul Nr.3.*

25. Cebotari V.K. Mikrobiologicheskie preparaty kompleksnogo dejstviya dlya rastenievodstva. // *Moskovskij mejdunarodnyj*

kongress „Biotekhnologiya: sostoyanie i perspektivy razvitiya. M., 2007, s.194.

26. Bojko N.A., Ananiko G.G., Repin V.E. Shtam bakterij *Pseudomonas lemoignei* dlya polucheniya preparata, ispol'zuemogo dlya stimuleaczii rosta i zashchity rastenij ot gribnyh fitopatogenov v proccesse vegetaczii i pri hranenii urozhaya. // *Patent 2121271. RU. Opublik. 10.11.98.*

27. Hoteanovici A.V., Temnova O.V. Orlova N.A., Bâkova N.V., Cebotari V.K. Sredstvo dlya zashchity zernovyh kul'tur, podsolnechnica, vinograda ot fitopatogennyh mikroorganizmov, a ovoshnyh cul'tur ot fitopatogennyh bakterij. // *Patent 2259397. RU. Opublik. 27.08.2005. Buil. Nr.24.*