

**TRATAREA SEMINTELOR DE SOIA CU BACTERII AZOTOFIXATOARE ÎN SCOPUL
SPORIRII RECOLTEI ȘI CALITĂȚII PRODUCȚIEI AGRICOLE**

224

Todiraș Vasile, *doctor în științe agricole, conferențiar cercetător, cercetător științific coordonator*, Prisacari Svetlana, *cercetător științific*, Lungu Angela, *cercetător științific*, *Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, MEC*.

En conditions de champ ont été testées bactéries ayant la capacité stimulant ou d'azotofixator. Par conséquence de la recherche on a établi leur efficacité à l'égard de la croissance, le développement, la productivité et la fixation d'azote atmosphérique dans les plantes de soja.

Mots-clés: *Bactéries, traitement, rhizobium, fixation d'azote, soja, plante, récolte.*

INTRODUCERE

Ultimele decenii ale sec. al XX-lea au fost în mare parte dedicate căutării unor căi optimale de dezvoltare economică a comunității mondiale. Au fost schimbate mai multe concepții. Ultima concepție „dezvoltare durabilă” astăzi și-a găsit aplicarea sa în practică, fiind determinată de starea precară a mediului ambiant și perspectivele creșterii numărului populației. Raportul Comisiei pentru protecția mediului ambiant a ONU „Viitorul nostru comun” publicat în 1987, a introdus termenul de dezvoltare durabilă în uzul de fiecare zi. În anul 2002 secretarul general al ONU a evidențiat cinci sfere la care trebuie atrasă o atenție deosebită pentru următorii 30 ani: apa și canalizarea, energetica, sănătatea, agricultura și biodiversitatea [1].

Condiția de bază care ar asigura o dezvoltare durabilă și păstrarea productivității solurilor este introducerea în practica agricolă a biotehnologiilor care permit înlocuirea produselor chimice de ameliorare și al pesticidelor cu preparate biologice. În acest context, una din sarcinile primordiale ce îi revin microbiologiei în domeniul agriculturii este de a izola, selecta și a introduce în sol microorganisme lipsite de calități negative, dar posesoare ale calităților de menținere și ridicare a fertilității solului, de sporire a productivității și calității producției agricole [5, 6]. Astfel, un rol esențial la soluționarea unor probleme în agricultură cum ar fi deficitul de proteină le revine plantelor leguminoase, iar în cadrul lor – soiei și microorganismelor din rizosfera/rizoplana plantelor. Totodată, interesul crescând al cercetătorilor față de soia este cauzat și de perspectivitatea acestei plante în vederea soluționării unei probleme actuale – a crizei energetice și a ocrotirii mediului ambiant.

Plantele de soia, care intră în simbioză cu bacteriile de nodozități servesc ca furnizori de bază a azotului „biologic”, element nutritiv mult mai avantajos pentru plante decât azotul mineral. Acest specific se datorează inofensivității depline a azotului fixat pentru om și mediul ambiant precum și cheltuielilor mici de energie necesare pentru activitatea microorganismelor fixatoare de azot.

În conformitate cu cele expuse scopul investigațiilor, pe care le-am întreprins, pe parcursul ultimilor ani, a fost de a testa unele tulpini de bacterii izolate din rizosfera/rizoplana soiei pentru a stabili eficacitatea lor asupra proceselor de germinare a semințelor, creștere și productivitate a plantelor în condiții de câmp.

MATERIALE ȘI METODE

În calitate de obiecte microbiologice de cercetare au servit trei tulpini de bacterii: *Rhizobium japonicum* RD2; *Rhizobium japonicum* 646 a și *Azotobacter* sp. 8, soiurile de soia omologate în Republica Moldova (Aura, Zodiace). Experiențele au fost efectuate în condiții de câmp pe teritoriul Bazei Experimentale a Academiei de Științe a Moldovei, cât și pe teritoriul *Stațiunii experimentale „Băcioi” a Ministerului Agriculturii și Industriei Alimentare* în colaborare cu angajații stațiunii respective.

Studiul eficacității bacteriilor asupra creșterii, dezvoltării și productivității plantelor de soia s-a efectuat prin metoda de comparare. Pentru aceasta s-a făcut experiențe conform următoarei scheme:

1. Martor – seminte netratate.
2. Tratarea semintelor cu *Rhizobium japonicum* 646a.
3. Tratarea semintelor cu *Rhizobium japonicum* RD2.
4. Tratarea semintelor cu bacteriile *Azotobacter* sp. 8.
5. Tratarea semintelor cu tulpinile *Rhizobium japonicum* RD2+ *Azotobacter* sp. 8.

Bacterizarea semințelor s-a făcut în conformitate cu metodele aprobate [3, 4]. În fiecare experiență au fost luate în calcul: procentul de răsărire, înălțimea plantelor, masa brută și uscată, numărul de nodozități și masa lor, activitatea azotofixatoare a sistemului rizobio-radicar și în final – recolta de boabe.

Pentru determinarea capacității azotofixatoare a sistemului rizobio-bacterian în fazele de butonizare și înflorire s-au colectat probe de plante și sol, după care s-a determinat activitatea procesului de fixare a azotului folosind metoda acetilenică efectuată la cromatograful „Crom-5” [7].

În faza coacerii depline s-a studiat structura recoltei de soia și în final recoltarea boabelor.

Prelucrarea datelor experimentale s-a efectuat conform metodei B. Dosphehov [2].

REZULTATE ȘI DISCUȚII

1. Influența bacteriilor azotofixatoare la soia în condiții de câmp (Baza experimentală a AȘM)

Reieșind din scopul propus sarcina principală a cercetărilor a fost de a studia în condiții de câmp eficacitatea tulpinilor de bacterii selectate asupra proceselor de creștere, dezvoltare și productivității plantelor de soia.

Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelele 1-3.

Tabelul 1. Influența bacteriilor azotofixatoare asupra creșterii plantelor și acumulării de biomasă la soia, soiul Aura (Experiență de câmp. Baza Experimentală a AȘM)

Varianta	Înălțimea plantelor, medie, cm M ± m	Adaos, %	Masa brută a plantelor, medie, g M ± m	Adaos, %	Masa uscată a plantelor, medie, g M ± m	Adaos, %
Martor	92,0 ± 5,7	-	218,6 ± 33,3	-	44,4 ± 6,9	-
Rh. japonicum 646 a	95,6 ± 7,7	3,8	194,6 ± 41,9	-	41,1 ± 9,1	-
Rh. japonicum RD2	95,8 ± 4,6	4,1	242,5 ± 16,2	10,9	51,3 ± 3,5	15,7
Azotobacter sp.8	94,8 ± 8,6	2,9	222,6 ± 36,9	1,8	47,0 ± 6,9	6,0
Rh.japonicum RD2+ Azotobacter sp.8	88,0 ± 9,1		242,6 ± 19,1	11,0	50,3 ± 5,3	13,4

Din datele obținute reiese că cel mai bine a influențat procesul de acumulare a masei uscate tulpina Rhizobium japonicum RD2 mărind acest indice cu 15,7%, fiind urmată de varianta Rhizobium japonicum RD2 + Azotobacter sp. 8. Tulpina Rhizobium japonicum 646 a a avut un rezultat chiar mai jos decât în martor.

Datele referitor la formarea și activitatea aparatului rizobio-bacterian sunt incluse în tab. 2.

Tabelul 2. Influența bacteriilor azotofixatoare asupra formării și activității aparatului rizobio-bacterian la soia, soiul Aura (masa brută și uscată calculată la 5 plante)

Varianta *	Numărul de nodozități, buc. M± m	Adaos, %	Masa brută a nodozit., g, M±m	Adaos, %	Masa uscată a nodozit.,g M ± m	Adaos, %	Fixarea N ₂ atmosferic, mkg N ₂ /plantă/oră	Adaos, %
Martor	411,3±163,5	-	3,7±1,1	-	1,58±0,13	-	134,38	-
646 a	519,5±256,4	26,3	3,8±1,3	2,4	1,39±0,13	-	157,77	17,4
RD2	479,8±262,8	16,7	4,3±2,1	15,4	1,64±0,80	4,1	172,53	28,4
Az.sp.8	423,3±269,7	2,9	2,7±1,6	-	1,01±0,55	-	102,79	-
RD2+Az.sp.8	564,3±282,1	37,2	4,3±1,9	15,8	1,61±0,64	1,9	174,67	30,0

Conform datelor obținute nodozitățile formate pe rădăcinile plantelor de soia în toate variantele tratate sunt într-un număr mai mare decât în martorul absolut (cu 2,9-37,2%), luate, însă, față de tulpina Rhizobium japonicum 646a (etalon) după acest indice mai efectiv se deosebește varianta RD2+Az. sp. 8 – cu 37,2%, mai puțin efectivă în acest caz s-a arătat tulpina RD2 – numai cu 16,7%. După activitatea azotofixatoare a sistemului rizobio-bacterian se evidențiază în acest caz varianta RD2+Az. sp. 8 cu o capacitate de fixare a azotului mai mare cu 30% decât a martorului absolut și tulpina RD2 – cu 28,4%. De aici, poate fi făcută concluzia că pentru aprecierea capacității azotofixatoare nu este suficientă numai cunoașterea numărului de nodozități, dar trebuie luate în calcul, de asemenea, activitatea acestora, volumul și masa lor.

Datele referitor la formarea păstăilor și recoltei de boabe este reflectat în tabelul 3.

Tabelul 3. Influența bacteriilor azotofixatoare asupra formării păstăilor și a recoltei de boabe la soia

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	-
Rh.japonicum 646 a	259,00±11,2	16,9	228,25±21,7	11,8	56,86±13,7	24,5
Rh.japonicum RD2	344,25±42,4	55,4	301,50±22,9	47,6	71,93±7,0	57,5
Azotobacter sp.8	321,00±77,5	44,9	282,00±65,2	38,2	66,03±20,8	44,6
Rh.jap.RD2+Az.sp.8	161,50±26,2	-	138,50±17,1	-	34,25±8,5	-

Rezultatele obținute în majoritatea variantelor sunt mai înalte față de martor în afară de varianta unde semințele au fost tratate în comun (Rh. japonicum RD2+Azotobacter sp.8). Din datele obținute

reiese, de asemenea că tratarea semințelor aparține a contribuit la formarea unui număr mai mare de păstăi și, în special, a celor valoroase, fapt ce a acționat pozitiv asupra formării recoltei de boabe.

2. Influența bacteriilor azotofixatoare la soia în condiții de câmp (Stațiunea Experimentală „Băcioi”)

Scopul experienței a fost de a verifica prin comparare eficacitatea prelucrării semințelor de soia, soiul Zodiac, înainte de semănat fiind utilizată metoda de bacterizare. Experiența a fost efectuată pe câmpul de testare aculturilor agricole (comuna Băcioi, mun. Chisinau). Suprafața unei parcele a fost de 60m².

Tratarea și însemnarea boabelor de soia s-a făcut în decada a treia a lunii aprilie, când temperatura în sol, la adâncimea de 10-15 cm era de 12-15°C.

Dupa 3 săptămâni de la însemnarea soiului au început să răsăre plantulele, unde s-a făcut și evidențierea capacității germinative a semințelor. La faza dată s-a constatat, că în variantele unde boabele au fost tratate cu tulpinile *Rhizobium japonicum* RD2 și *Azotobacter* sp.8 capacitatea de răsărire a plantulelor a fost mai evidențiată față de celelalte variante. Astfel, s-a stabilit că numărul plantulelor răsărite în variantele indicate au fost cu respectiv 7,2 și 7,0% mai mare decât în celelalte variante.

Datele referitoare la procesele de creștere și dezvoltare a plantelor de soia, soiul Zodiac, sunt incluse în tabelul 4.

Tabelul 4. *Influența tratării semințelor de soia cu bacteriile azotofixatoare asupra proceselor de creștere și dezvoltare a plantelor (Experiență de câmp. Baza experimentală de testare, s. Băcioi)*

Varianta	Înălțimea plantelor		Masa brută la 5 plante		Masa uscată la 5 plante	
	cm, M ± m	Adaos, %	g, M ± m	Adaos, %	g, M ± m	Adaos, %
Martor	61,5 ± 2,32	-	127,8 ± 1,14	-	37,4 ± 2,98	-
Tratarea semințelor cu tulp. <i>Rhizobium japonicum</i> RD2	71,1 ± 1,13	15,6	136,7 ± 19,7	7,0	44,1 ± 2,06	17,9
Tratarea semințelor cu tulpina <i>Azotobacter</i> sp.8	72,0 ± 0,92	17,1	157,5 ± 3,0	23,2	43,2 ± 2,90	15,5
Tratarea semințelor cu tulp. <i>Rhiz. japonicum</i> RD2 + <i>Az. sp.8</i>	63,3 ± 0,17	2,9	83,5 ± 2,8	-	39,0 ± 4,35	4,3

Conform rezultatelor obținute cea mai mică înălțime au avut-o plantele tratate cu tulpinile *Rz. japon. RD2 + Az. sp. 8* (63,3 cm). Cele mai înalte s-au dovedit a fi plantele tratate cu tulpina *Azotobacter* sp. 8 - 72,0 cm. Plantele tratate cu tulpina *Rz. japonicum* RD2 aveau o înălțime medie de 71,1 cm. Masa brută a plantelor a fost apreciată din câte cinci plante luate din fiecare variantă. S-a constatat că plantele tratate cu tulpina *Azotobacter* sp. 8 au acumulat cea mai mare masă (157,5 g), tulpina *Rz. Japonicum* RD2 - 136,7 g, iar combinația tulpinilor *Rz. japonicum* RD2 + *Azotobacter* sp.8 a acumulat numai 83,5 g cantitate cu mult mai mică decât în martor.

Prin compararea masei uscate din variantele studiate s-a stabilit că cea mai mare masă uscată s-a acumulat în plantele tratate cu tulpina *Rh. japonicum* RD2 - 44,1 g, au urmat apoi plantele tratate cu tulpina *Azotobacter* sp. 8 - 43,2 g. Varianta *Rhizobium japonicum* RD2 + *Azotobacter* sp. 8 și varianta martor au acumulat cantități echivalente de masă uscată (39,0 g și, respectiv, 37,4 g).

În condiții de câmp pe rădăcinile plantelor tratate cu bacteriile menționate a fost identificat un număr semnificativ de nodozități (tab. 5).

Tabelul 5. *Influența bacteriilor azotofixatoare asupra formării și activității sistemului rizobio-radicular la soia, soiul Zodiac, în condiții de câmp (Stațiunea Experimentală „Băcioi”)*

Varianta	Nr. de nodozități, buc., M ± m	Masa brută a nodozităților		Fixarea azotului atmosferic	
		g, M ± m	Adaos față de martor, %	mkg N ₂ /pl./oră	De câte ori s-amajorat activitatea
Martor (semințe netrate)	7,0 ± 3,38	0,41 ± 0,19	-	12,13	-
Tratarea semințelor cu <i>Rizobium japonicum</i> RD2	32,5 ± 0,82	2,88 ± 0,32	602,4	250,26	20,6
Tratarea semințelor cu <i>Azotobacter</i> sp. 8	7,0 ± 1,93	0,85 ± 0,18	107,3	139,06	11,5
Tratarea semințelor cu bact. <i>Rh. jap.</i> + <i>Azotobacter</i> sp.8	10,6 ± 1,76	1,53 ± 0,13	273,2	167,62	13,8

Din tabel reiese că în toate variantele numărul nodozităților variază considerabil. Cele mai multe au fost observate pe rădăcinile bacterizate cu tulpina RD2, cu o medie de 32,5 bucăți la o plantă, urmate de bacteriile Rh. japonicum+Azotobacter sp. 8 cu o medie de 10,6 buc., apoi Azotobacter sp.8 și martor – câte 7 bucăți fiecare. Rezultatele analizei gaz-cromatografice au fost satisfăcătoare. Cea mai intensă capacitate de azotofixare a fost evidențiată la complexul nitrogenazic format de tulpina Rhizobium japonicum RD2 (250,26 mkg N₂/plantă/oră), urmat de bacteriile Rz.RD2 + Az.sp.8 (167,62 mkg N₂/plantă/oră) și Azotobacter sp. 8 (139,06 mkg N₂/plantă/oră). Capacitatea azotofixatoare a microflorei spontane a martorului a fost de 12,13 mkg N₂/plantă/oră 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 Azotobacter sp. 8 și de 1,5 ori față de combinația Rhizobium japonicum RD2 + Azotobacter sp. 8. (vezi tabelul 5).

În faza de coacere deplină a soii, înainte de recoltarea ei, de pe fiecare parcelă au fost colectate câte 10 plante pentru aprecierea structurii recoltei. Datele obținute sunt incluse în tabelul 6.

Tabelul 6. *Structura recoltei de soia, soiul Zodiac. Experiență în condiții de câmp (Stațiunea Băcioi)*

Varianta	Total păstăi, buc. M ± m	Adaos, %	Păstăi valoroase, buc. M ± m	Adaos, %	Recolta, g M ± m	Adaos, %
Martor	329,5 ± 24,1	-	300,5 ± 3,9	-	76,24 ± 7,46	-
Rh.japonicum RD2	380,5 ± 51,5	15,5	352,5 ± 47,6	17,3	93,35 ± 13,4	22,4
Azotobacter sp.8	352,6 ± 24,8	7,0	316,1 ± 20,8	5,2	85,71 ± 11,1	12,4
Rh.jap.RD2+Az.sp.8	346,0 ± 26,1	5,0	308,3 ± 23,9	2,7	83,23 ± 9,2	9,2

Din punct de vedere al recoltei cele mai bune rezultate au fost obținute în varianta unde semințele au fost tratate cu tulpina bacteriei Rhizobium japonicum RD2 (22,4% față de martor). Ceva mai mic a fost adaosul la recoltă în cazul tratării semințelor cu bacteria Azotobacter sp.8 (+12,4%) și numai 9,2% a fost adaosul în varianta dublu tratament: Rhizobium japonicum RD2 + Azotobacter sp.8. În ceea ce privește numărul total de păstăi și a celor valoroase, rezultatele sunt în proporție directă cu recolta.

După analiza structurii recoltei s-a făcut colectarea ei în cadrul variantelor. Pentru colectare s-a folosit combina Combi. Recolta este prezentată în tabelul 7.

Tabelul 7. *Influența bacteriilor azotofixatoare de asupra recoltei de boabe (soia, soiul Zodiac)*

Varianta	Recolta de boabe, kg/parcelă, M ± m	Adaos la recoltă	
		kg/parcelă	%
Martor (semințe netrate)	9,8 ± 0,51	-	-
Tratarea semințelor cu Rizobium japonicum RD2	11,05 ± 0,42	1,25	12,8
Tratarea semințelor cu Azotobacter sp. 8	10,75 ± 0,20	0,95	9,7
Tratarea semințelor cu bact. Rh.jap. + Azotobacter sp.8	10,35 ± 0,28	0,55	5,6

În rezultatul recoltării cea mai mare cantitate de boabe a fost obținută în varianta tratată cu tulpina de bacterii Rhizobium japonicum RD2 (11,05 kg/parcelă), urmată de varianta în care semințele au fost tratate cu bacteria Azotobacter sp. 8.(10,75 kg) și varianta mixtă (10,35 kg). În martor fiind obținută numai 9,8 kg, astfel rezultatele obținute prin analiza structurii recoltei și recoltării depline a boabelor sunt identice și demonstrează caracterul benefic al tratării semințelor înainte de semănat cu microorganisme azotofixatoare. Astfel, s-a confirmat că procedeul utilizat este benefic pentru sporirea recoltei și calității la plantele de soia.

CONCLUZII:

1. Tratarea semințelor de soia cu bacteriile azotofixatoare sporește cantitatea și calitatea recoltei de boabe.
2. Atât analiza structurii recoltei, cât și calitatea ei demonstrează caracterul benefic al tratării semințelor înainte de semănat cu microorganisme azotofixatoare.
3. Utilizarea bacteriilor la cultivarea soiei favorizează procesele de creștere, dezvoltare și productivitate a plantelor stimulând, totodată, activitatea azotofixatoare a sistemului rizobio-radicular.

Bibliografie:

1. Pinstrup-Anderson, P.; Pandey-Lorch, R.; Rosegrant, M.W. *The world food situation: recent developments, emerging issues and long-term prospects*. Vision 2020:Food Policy Report. International Food Policy Research Institute. Washington, DC, 1997, 36 PP 10.
2. Доспехов, Б.А. *Методика полевого опыта*. – Москва: «Колос», 1979.- 412 с.
3. *Рекомендации по применению нитрагина*. - Москва, 1974. - 37 с.

4. *Рекомендации по рациональному применению ризоторфина под сою на юге Украины.* ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии. - Симферополь, 1985. - 17 с.
5. 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.
6. Тихонович, И.А.; Проворов, Н.А. *Кооперация растений и микроорганизмов: новые подходы к конструированию экологически устойчивых агросистем.* В: Успехи современной биологии. – 2007, Том 127, с. 339-357.
7. Умаров, М.М. *Ацетиленовый метод изучения азотфиксации.* В: Почвоведение, 1976, № 11, с. 119-123.