

ESTIMAREA COMPLEXELOR INVAZIVE DE NEMATODE FORMATOARE DE CHISTURI DIN ORDINUL *TYLENCHIDA* LA CULTURA DE CARTOF ÎN CONDIȚIILE REPUBLICII MOLDOVA

Toderaș Ion, *academician, doctor habilitat, profesor universitar*, Iurcu-Straistaru Elena, *doctor în științe agricole, cercetător științific superior, Institutul de Zoologie*, Bivol Alexei, *doctor în științe biologice, cercetător științific superior, Universitatea Agrară de Stat din Moldova/Institutul de Zoologie*; Rusu Stefan; *doctor în științe biologice, Bivol Elisaveta, cercetător științific, Institutul de Zoologie, MEC.*

The presence on potato crops of the invasive complexes of parasitic nematodes of the genus: *Ditylenchus*, *Globodera*, *Meloidogyne* and *Pratylenchus* are signaled in all R.Moldova phyto-technical systems, capable of seriously compromising the tuberculosis harvest. Following the helminthological parasitic impact, they trigger specific diseases called *ditylenchoses* and *globoderoses*, with various symptomatic destructive etiologies in plants. Phytosanitary investigations and helminthological analyzes are estimated to establish the parasitic impact on potatoes culture on the invasive nematode complexes of the cyst-forming species, under the same environmental conditions as the influence of mixed technological management. The surveys were carried out by establishing the helminth phytosanitary status, with sampling of soil from the potato plant rhizosphere on various productive plantations. As a result of the investigations high and medium helminth sensitivity reactions were established during critical periods of root, stolons and new tubercles formation. Estimated species were detected with increased temperatures and humidity, within the medium and advanced limits of 25-50%. These results intervene in the adaptation of an integrated protection system, with the application of efficient elements that contribute to the regulation of the numerical density of invasive potato nematodes. The obtained results allow the establishment of the efficiency of the technological management of cultivation and integrated protection for potato crops through contributions to optimize the helminthic phytosanitary condition of the harmfulness with serious impact on the harvest and the quality of roots.

Key words: *nematodes, potato crops, biological control, abundance, diversity, trophic specialization.*

În *Laboratorul de Parazitologie și Helmintologie al Institutului de Zoologie*, conform proiectului Program de Stat 2020-2022, se realizează cercetări în aspect ecologo-biologic, funcțional și taxonomic privind studiul nematofaunei invazive la diverse culturi tehnice și horticole. Sunt actuale și prioritare cercetările în vederea stabilirii structurii complexelor de nematode cu spectrul trofic parazitar, modalitățile de declanșare a helmintozelor cu efect specific patogen, nivelul de afecțiune în impact cu condițiile instabile de mediu, tehnologiile de cultivare, sortimentul utilizat. În aceste obiective de cercetare se încadrează și cultura cartofului, cultivat extensiv pe toate continentele, datorită plasticității sale ecologice, înalt adaptată în condițiile diferitor zone ecologo-geografice. În Republica Moldova se cultivă cu precădere pentru utilizarea în stare proaspătă a tuberculilor, plantele posedă capacități de rezistență și toleranță la unele specii de organisme nocive, se încadrează în sisteme moderne de agricultură ecologică, prin abilități la structuri optime de asolament. În pofida acestor avantaje, cultura de cartof, solicită o mare atenție și eforturi în privința sporirii producției prin realizarea permanentă a controlului biologic fitosanitar cu aplicarea unor elemente de protecție integrată, motivații pentru inițierea unui studiu specific și în aspect helmintologic.[8,10,12,13,14]

Scopul investigațiilor noastre elucidează studiul complexelor de nematode invazive din genurile *Ditylenchus* și *Globodera*, speciile *D. destructor*, *G. rostochiensis*, *G. pallida*, asociate cu alte forme în diverse zone specializate și modalități de cultivare a cartofului din Republica Moldova. Reieșind din scopul investigațiilor s-a realizat următorul obiectiv: determinarea diversității și structurii complexelor de nematode invazive din diverse genuri asociate cu cele formatoare de chisturi din genul *Globodera*, cu stabilirea impactului parazitar, prin analize comparative ai indicilor frecvenței și abundenței, nivel de infestare asociativ în perioada de vegetație pe plantațiile productive de cartof [4, 6, 8, 9].

METODE ȘI MATERIALE DE CERCETARE

Pentru realizarea scopului și obiectivului propus s-au utilizat investigații specifice helmintologice în agrocenozele plantelor fitotehnice (cultura cartofului, cerealele de toamnă și sfecla de zahăr), prin sondaje de rută și evidențe periodice, cu prelevarea probelor de sol și plante afectate simptomatic helmintotic, comparativ pe diverse sectoare investigate, din zona Nord și Centru. Pentru stabilirea suprafețelor infestate de helminți și impactul parazitar, au fost monitorizate peste 500 hectare din 16 sectoare, 4 r-ane specializate în cultivarea cartofului productiv, semincer pe teren deschis și protejat, cu diverse soiuri, tehnologii, precocitate, cu prelevarea și analiza mostrelor de sol și plante infestate. Sondajele de evidență parazitară s-au realizat lunar, acoperind fazele principale de vegetație (primăvară-vară, 2020-2021), cu stabilirea indicilor fitoparazitari de estimare a impactului helminto-fitoparazitar cum

sunt: *densitatea numerică, frecvența atacului (F.%), intensitatea atacului (I%)*, *scări de estimare* utilizate în urma controlului biologic (figurile 1, 2, 3).

Studiul materialului faunistic colectat a fost analizat ulterior în laborator, conform metodelor clasice și actuale adoptate, cu unele modificări în dependență de specificul genurilor de fitonematode. Inițial nematodele au fost extrase din sol și organe afectate, prin metoda clasică de flotație și decantare „*Baermann funnel*”, cu unele ajustări specifice de analize. Extracția și metodele ce țin de eliminarea chisurilor din sol și cartofi s-a efectuat după *Gross-Liuzevičhii Dekker, 1972*. Apoi, nematodele extrase, au fost fixate în formalină fierbinte de 4% la temperatura 60°C, urmate de analize la microscop. Materialul fixat a fost supus analizelor microscopice cu stabilirea unităților taxonomice și densității numerice în probele analizate cu ajutorul determinatoarelor de specialitate după următorii taxonomiști nematologi: Santos et al., 1997 Tailor & Brown, 1997, Siddiqi, 2000. Perry & Moens, 2006, Andrassy, 2007.[1,3,6,7,11,15].



Fig 1, 2, 3. *Lucrări de evidențe fitosanitară vizuale a solului, plantelor și noilor tuberculi în perioade vegetație și colectarea probelor pentru analize ulterioare.*

Secvențe de cercetare în *Laboratorul de Parazitologie și Helmintologie* a probelor colectate de sol și organe afectate de fitohelminții parazitari în stabilirea gradului de infestare apartenenței taxonomice, densitatea numerică a indivizilor, mai-iulie, 2020.



Fig. 4, 5, 6. *Analize de laborator cu extracție nematodelor din probele de sol cu evidența impactului parazitar la plantele și tuberculi de cartof, afectate helmintotic, iunie-iulie, 2020.*

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Condițiile cilmaterice în perioada de vegetație a anilor 2020-2021 au fost suficient de favorabile pentru apariția și dezvoltarea în masă a complexelor de nematode parazite, practic la toate culturile tehnice investigate, inclusiv și la cartof. Rezultatele analizelor de laborator au pus în evidență frecvența și abundența diversă a nematodelor ce aparțin genurilor: *Ditylenchus spp.*, *Heterodera spp.*, *Meloidogyne spp.*, *Pratylenchus spp.*, cu prevalența speciilor *D. destructor*, *Meloidogyne incognita*, *M. hapla*, *Globodera rostochiensis*, *G. pallida*, *Pratylenchus pratensis* la cultura de cartof practic pe toate sectoarele și soiurile testate. Valorile tabelului 1, reflectă variația diversității și densității numerice a complexelor de nematode parazite în dinamica creșterii și dezvoltării plantelor în impact cu variațiile condițiilor de mediu la soiurile timpurii- mijlocii, în perioada lunilor martie - iulie 2020-2021. În tabel se estimează ascensiunea densității numerice a speciilor de fitonematode parazite în dinamica creșterii și dezvoltării culturii de cartof în impact cu condițiile de mediu în perioada activă de vegetație unde mai abundent au fost semnalati indivizii speciei ce aparțin nematodului cartofului - *Ditylenchus destructor* (figurile 7, 8, 9), au evaluat cel mai reproductiv și invaziv în densități valorice ascendente: la 27 aprilie în mediu 106 indivizi /100 g. sol, cu o abundență până peste 250 indivizi/100 g. sol, stare ce a determinat infestarea fitohelmințologică a sectorului în limitele medii și avansate, datorită precipitațiilor și temperaturilor înalte. [8, 10, 11].

Tabelul 1. *Dinamica prezenței și evaluării efectivului numeric al complexelor de nematode invazive, asociate în sol depistate pe plantațiile productive de cartof, Zona Nord-Centru, soiul Agatha*

Genurile și speciile depistate	Specializarea trofică	Data recoltării analizelor la 100 g sol/rădăcini din rezosfera plantei				
		26.03	27.04	28.05	29.06	30.07
1. Genul <i>Ditylenchus</i> <i>D. destructor</i>	Endoparazite migratoare	+ 38	++ 106	+++ 245	+++ 286	++ 172
2. Genul <i>Globodera</i> sp. <i>G. rostochiensis</i> <i>G. pallida</i>	Formatoare de chisturi aurii	- 00 - 00	- 00 - 00	++ 154 + 38	+++ 224 ++ 110	+++ 250 + 65
3. Genul <i>Meloidogyne</i> sp. <i>M. incognita</i> <i>M. hapla</i>	Semiendoparazite galicole	+ 21	+ 56	++ 145	+++ 256	++ 170
4. Genul <i>Pratylenchus</i> sp. <i>P. pratensis</i>	Endoparazite polifage	- 0	+ 42	++ 128	++ 162	+++ 230

Legenda: - lipsă indivizi; + prezența indivizilor de la 30 până la 100 exemplare; ++ prezența indivizilor de la 100 până la 200 exemplare; +++ prezența indivizilor peste 200 exemplare.

Au fost puse în evidență asociativ și complexele de nematode formatoare de chisturi din genul *Globodera* sp., cu densități numerice avansate în perioada formării noilor tuberculi, semnalate în lunile mai-iulie cu abundențe de la 154 până la 250 indivizi, în special nematodele ce aparțin speciei *Globodera rostochiensis*, urmate de indivizii speciilor din genurile *Meloidogyne* sp., *Pratylenchus* sp., cu densități de 42 pînă la 230 indivizi la 100 grame sol. Aceste valori indică nivelul de infestare avansat la cultura de cartof, semnalat practic în toate zonele cercetate și constatate prin afecțiuni helmintotice pe tubercuții recoltați, patologii specifice de ditilenhoze, globoderoze, meloidoginoze și paratilenhoze mixte semnalate la sortare.



7)



8)



9)

Fig. 7. 8. 9. *Indivizi ai speciei D. destructor extrase din tuberculi în diverse stadii de dezvoltare cu evidențierea afecțiunilor simptomatice de ditilenhoză pe tuberculi, faza de recoltare și sortare.*

Din genul *Globodera* au fost depistate chisturi fertile și indivizi de diverse stadii a speciei *Globodera rostochiensis*. Specia respectivă a fost depistată la cultura de cartof în teren în valori de la 5 la 20 chisturi în 100 grame sol și plante, începând cu luna mai odată cu depunerile de precipitații și creșterea temperaturilor din sol (figurile 10, 11, 12) estimează chisturile aurii din genul *Globodera* în faze de dezvoltare și mature extrase din sol). Specia *Globodera pallida* a fost depistată mai târziu pe parcursul lunii iunie la cultura de cartof în cantități reduse pe formațiunile noi de tuberculi estimate în figurile 13, 14, 15 ce reflectă chisturile, larvele juvenile stadiul 2 și afecțiunile pe rădăcinile noi formate ale plantelor. [6, 8, 10, 14]



10)

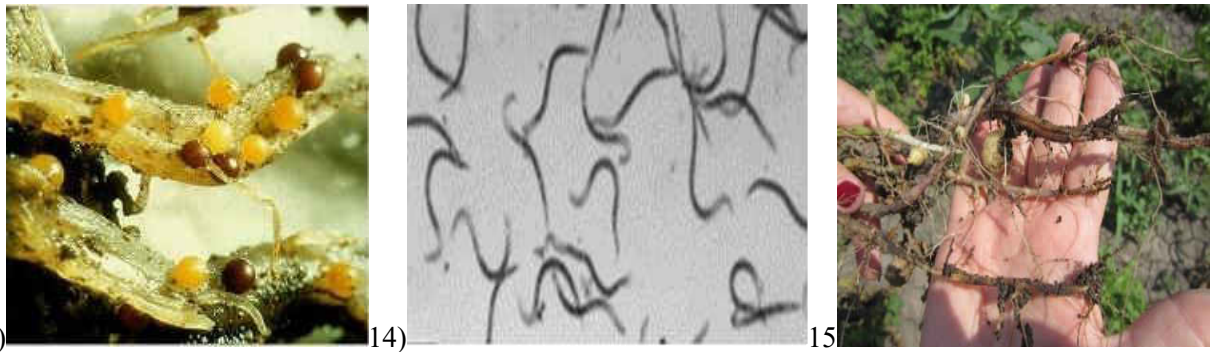


11)



12)

Fig. 10 - *larvă juvenilă a speciei Globodera rostochiensis*; 11-*Chisturi de G. rostochiensis în diverse stadii de dezvoltare*; 12-*sector de cartof afectat de globoderoză (poze, autori: Iurcu E. și colab. 2019).*



13) *Chisturi aurii ai speciei Globodera pallida*; 14)-larve juvenile; 15-rădăcini afectate de globoderoză.

Toate speciile investigate sunt prezentate în figurile originale realizate de autori în perioada de cercetare direct pe terenul de cartof, cât și în rezultatul analizelor de laborator prin tehnici de extragere-fixare-estimare a unităților taxonomice din sol.



16) Femele adulte periforme; 17)- larvă invazivă- stadiul IV, ce aparțin g. *Meloidogyne sp.*; 18-rădăcini infestate cu afecțiuni galicole de meloidoginoză.

Speciile depistate aparțin genului *Meloidogyne sp.*, prolifică în condițiile Republicii Moldova cu 2-3 generații pe an. Iernează atât în stadiul de femele ajunse complet dezvoltate, cât și în stadiul de ou. În anii cu climat mai rece toate ouăle rezistă, însă femeile hibernante, pier și evoluția dăunătorului este reluată în primăvară de la stadiul de ou. Dezvoltarea embrionului are loc când temperatura solului depășește +15 - +20°C, perioada de incubație durează câteva zile, larvele părăsesc ouăle, ajung astfel în sol umed, se deplasează ușor atât pe verticală cât și pe orizontală. După 2-3 săptămâni de nutriție, larvele năpârlesc de 4 ori, după ultima năpârlire se dezvoltă rapid, cele din care evoluează ca femele, rămân în țesuturile rădăcinilor, după fecundare în sacul oviger se depune o cantitate impunătoare de ouă (500-3000), care rămân în interiorul rădăcinilor sunt rezistente la temperaturi scăzute și rămân să ierneze. Durata ciclului biologic și numărul de generații depind de mai mulți factori: temperatura și umiditatea solului, cantitatea și calitatea hranei etc. În condițiile climatului temperat, ca în țara noastră, nematodul nu se poate dezvolta în câmp deschis, ci doar în spații protejate, unde durata unei generații se eșalonează pe 45 de zile, sunt sensibile la lipsa umidității, dar mai rezistente la factorul de temperatură. În condiții de teren deschis predomină în mare parte nematodele ce aparțin speciilor *Meloidogyne hapla* și *Meloidogyne incognita*, ca agenți invazivi semnalati și la cultura de cartof.

Toate speciile investigate sunt prezentate în figurile originale realizate de autori în perioada de cercetare direct pe terenul de cartof cât și în rezultatul analizelor de laborator prin tehnici de extragere-fixare-estimare a unităților taxonomice din sol.

CONCLUZII:

1. Condițiile climaterice din perioada de vegetație a culturii de cartof în perioada anilor 2020-2022 au fost relativ favorabile pentru dezvoltarea plantelor de cartof și formarea complexelor de nematode fitoparazite invazive din genul *Ditylenchus* și *Heterodera*, speciile *D. destructor*, *Globodera rostochiensis*, inclusiv și speciile din genurile *Meloidogyne spp.*, *Pratylenchus spp.*, cu prevalența speciilor *D. destructor*, *Meloidogyne incognita*, *M. hapla* asociate pentru impactul parazitărilor asupra tuberculilor noi formați de cartof. Aceste specii de fitonematode sunt pe larg răspândite pe întreg teritoriul R. Moldova pe sectoarele productive de cartof, unde nu se respectă procedeele de cultivare în special monocultură, care nu reflectă deosebiri esențiale în densități numerice și grad de infestare în prima perioadă de vegetație.
2. În rezultatul investigațiilor la cultura de cartof în impact cu condițiile de mediu s-au stabilit complexe asociative invazive de nematode parazite ce au declanșat fitohelmintoze specifice cum sunt ditilenhoze,

globoderoze, melodogenoze și pratilenhoze, care au afectat în general tuberculii noi formați în valori medii de la 10 până la 50%, în dependență de zonă, sector, soi și grupă de precocitate. După indicii de frecvență și abundență predomină speciile asociate din genurile *Ditylenchus*, *Heterodera*, *Meloidogyne* și *Pratilenchus* ce aparțin ordinului *Tylenchida*.

3. În dinamica sondajelor de evidență s-a stabilit impactul mai agresiv al larvelor parazite din genul *Ditylenchus* și *Heterodera* ce formează complexe invazive în faza înfloririi și formării tuberculilor noi de cartof, cu densități numerice de peste 250 de indivizi la 100 g sol/probă, ce se încadrează în balul 2-3 de infestare. Acest nivel de infestare este extrem de periculos atât pentru tuberculii de cartof în faza de formare, cât și pentru cei predestinați pentru păstrare în depozite.

4. Sondajele de evidență și analizele de laborator, realizate în aceste condiții, estimează, prezența asociațiilor de nematode parazite la cultura de cartof, în densități moderate de la 15 până la 150 exemplare (adulți, larve, ouă), în 100 gr./ sol pe probă, cu nivelul de diminuat de afecțiune și infestare până la 3 baluri, conform scării de evoluare.

5. În R. Moldova s-a constatat prezența a peste 40 specii de fitonematode cu specializare ecto și endoparazite care provoacă daune considerabile nu numai cartofului, dar și altor culturi agricole cum sunt: sfecla de zahăr, porumbul, tomatele, vânăta, ardeiul, ceapa, usturoiul, castraveți, dovleacul, speciile horticole, floricole etc.

Bibliografie:

1. Baldwin, J.G.; Nadler, S.A.; Adams, B.J. *Evolution of Plant Parasitism among nematodes*. In: Annu. Rev. Phytopathol. 2004, V. 42. pp. 83-105.
2. Decramer, W.; Hunt, D. J. *Structure and classification plant nematodes*. In: Plant Nematology. Eds. Perry R.N., Moens M.M. Cabi. London, U.K. 2006. pp. 3-33
3. Деккеру, X. *Нематоды растений и борьба с ними*. - Москва, 1972.
4. Парамонов, А.А. *Основы фитогельминтологии*. Т.3. – Москва, 1970.
5. Nesterov, P.I. *Класс круглых червей - NEMATODA*”. Chișinău: Ed. Știința, 1988.
6. Nesterov, P.I. *Substituirea calitativă a complexelor fitonematodice din agroceenoze sub influența mijloacelor de luptă agrotehnice*. În: Diversitatea și ecologia lumii animale în sisteme naturale și antropizate. - Chișinău, 1997.
7. Melnic, M.; Erhan, D.; Rusu, Ș. Metode de combatere și profilaxie a nematodelor parazite la cultura cartofului. 2014. Moraru Ș., *Tratat de fitotehnie, cultura plantelor de câmp, cereale*, Iași Ed. Dosoftei 1998, 212 p.
8. Nesterov, P.I. *Substituirea calitativă a complexelor fitonematodice din agroceenoze sub influența mijloacelor de luptă agrotehnice*. În: Diversitatea și ecologia lumii animale în sisteme naturale și antropizate. Chișinău 1997.
9. Iurcu-Străistaru, E.; Bivol, A. and col. *Helmintological phytosanitary control (Solanum lycopersicum L. in green houses*. In: The National Conference with International Participation; Abstract book, October 21-22, 2019, Chisinau, Republic of Moldova, Tipogr. „Biotechdesign”, p. 143-144.
10. Perry, R.N.; Moens, M.M. (eds). (2006). *Plant Nematology. Cabi.* - London U.K. - 440 p.
11. Starodub, V.; Gheorghiev, N. *Fitotehnie*. - Chișinău: Ed. Museum 2013. - 543 p.
12. Starodub, V.; Pârvan, P.; Moraru, N. *Tehnologii – cadru în fitotehnie*. Chișinău: Print-Caro, 2013. - 172 p.
13. Sasanelli, N. and col. *Use of biological products at low environmental impact in the control of root-knot nematodes (meloidogyne spp.) on tomato and potatoes in ecological protected conditions*. In: The Scientific Symposium „Biology and Sustainable Development”, the 16 edition, *Programme and Abstracts*, Decembr 6-7, Bacau, Romania, 2018, p.76-77.
14. Siddiqi, M.R. *Tylenchida: parasites of plants and insects*. 2nd Edition. CAB International, Wallingford, Oxon, UK, 2000. - 848 p.

Investigațiile au fost realizate cu suportul proiectului instituțional - Program de Stat cu tema: Diversitatea artropodelor hematofage, a zoo- și fitohelminților, vulnerabilitatea și strategiile de tolerare a factorilor climatici. elaborarea și implementarea procedeelelor inovative de control integral al speciilor de interes comunitar”, cu cifrul: 20.80009.7007.12 F, 2020-2022. Conducătorul proiectului: academician, prof. universitar Ion Toderaș.