

EFICACITATEA BACTERIILOR DE RIZOSFERĂ ASUPRA PRODUCTIVITĂȚII SOIEI ÎN CONDIȚII DE PRODUCERE

V. Todiraș dr, L. Onofraș dr, T. Mohova dr, Gh. Vatamanu dr
Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM

1. INTRODUCERE

Soia prezintă un interes deosebit ca cultură de perspectivă pentru completarea deficitului de albumine, dar totodată și pentru protecția mediului ambiant datorită omiterii sau micșorării la maximum a cantității îngrășămintelor de azot la cultivarea ei. De asemenea, este bine cunoscut faptul că industria chimică la momentul de față nu are posibilitatea de a satisface în întregime cerințele agriculturii în ceea ce privește îngrășămintele de azot pe de o parte, iar pe de altă parte consumul mare de energie la producerea acestor îngrășăminte duce la creșterea în continuu a costului lor (1, 2).

Cele menționate impun folosirea mai intensă a azotului „dăruit” de natură și devenit utilizabil datorită plantelor leguminoase. Spre exemplu, cantitatea de azot acumulată în semănăturile de trifoi ar fi echivalentă cu introducerea în sol a 140-225 kg/ha de azot mineral, cel acumulat de lucernă – cu 225-500 kg/ha, de mazăre și soia – cu 100-120 kg/ha (3). Conform calculelor efectuate pe tot globul din contul fixării azotului biologic se acumulează în sol anual circa 139-175 mln tone de azot ce constituie aproximativ 1/10 din cantitatea totală a acestui element inclusă anual în masa biologică a solului (4). În afară de bacteriile de nodozități un rol important îl joacă microorganismele stimuloare din genurile *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azotobacter*, *Arthrobacter* și altele care produc substanțe fiziologic active contribuind pozitiv la creșterea și dezvoltarea plantelor, cât și la formarea recoltei (5, 6, 7).

În conformitate cu 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 germinare a semințelor, creștere și productivitate a plantelor în condiții de producere. Drept rezultat al testării urma stabilirea unei tulpini cu un potențial sporit de azotfixare și stimulare, care ar putea fi recomandată pentru producerea biopreparatelor respective.

2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

În calitate de obiecte microbiologice de cercetare au servit tulpinile bacteriilor de nodozități

Rhizobium japonicum RD₂ și stimuloare *Pseudomonas* sp. RRA₈, izolate de colaboratorii laboratorului Fitomicrobiologie din rizosfera plantelor de soia.

Pentru verificarea prin comparare a eficacității bacteriilor respective a fost montată o experiență pe câmpul de testare a culturilor agricole ce aparțin Ministerului Agriculturii și Industriei Alimentare a RM (s. Băcioi). Terenul destinat experienței a avut 12 parcele cu suprafețe a câte 60 m². În experiență au fost incluse 4 variante, fiecare în 3 repetări conform următoarei scheme:

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

Solul câmpului experimental – ciornoziom obișnuit cu pH 7,0. Cultura premărgătoare – porumbul. În experiență drept plantă-gază s-a folosit soia soiul – Zodiac. Semințele folosite au avut capacitatea germinativă de 80%. Tratarea lor s-a făcut manual, iar încorporarea în sol – cu semănătoarea, urmată de nivelatoare. Semănatul s-a efectuat în prima decadă a lunii mai a.2010. În perioada de vegetație s-au făcut observări fenologice asupra creșterii și dezvoltării plantelor.

În fazele de îmbobocire și înflorire a soiilor 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 acetilică la cromatograful „Chrom-5” conform metodei aprobate (8).

În faza coacerii depline s-a efectuat recoltarea boabelor cu combina. Pentru prelucrarea datelor experimentale s-a folosit metoda B. Dosphehov (9).

3. REZULTATE ȘI DISCUȚII

După 20 zile de la încorporarea semințelor în sol s-a efectuat evidențierea plantulelor răsărite. S-a stabilit că numărul plantulelor răsărite a fost cu

6,7% mai mare în varianta RD₂, cu 3,8% - în varianta RRA₈, iar în varianta RRA₈ + RD₂ numărul de plante a fost la nivelul martorului.

A fost, de asemenea, evaluată capacitatea tulpinilor de bacterii azotofixatoare RD₂ și stimulative RRA₈ de a influența asupra proceselor

creșterii și dezvoltării plantelor, acumulării de masă brută și uscată, fixării azotului atmosferic și productivității. Datele referitoare la procesele de creștere și dezvoltare a plantelor sunt incluse în tabelul 1. Conform rezultatelor obținute cea mai mică înălțime au avut-o plantele tratate cu tulpinile

Tabelul 1. Influența bacteriilor de rizosferă asupra proceselor de creștere și dezvoltare a soiului. *Experiență în condiții de producere a.2010 (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±11,4	-	37,4±2,98	-
RD ₂ (bacterizarea semințelor)	71,1±1,13	15,6	136,7±19,7	7,0	44,1±2,06	17,9
RRA ₈ (înmuierea semințelor în metaboliți)	72,0±0,92	17,1	157,5±3,0	23,2	43,2±2,90	15,5
RRA ₈ +RD ₂ (înmuierea semințelor în metaboliții RRA ₈ și bacterizarea cu RD ₂)	63,3±0,17	2,9	83,5±2,8	-	39,0±4,35	4,3

RRA₈+RD₂ (63,3 cm). Cele mai înalte s-au dovedit a fi plantele tratate cu tulpina RRA₈ – 72,0 cm. Plantele bacterizate cu tulpina 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 RRA₈ au acumulat cea mai mare masă (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.

Prin compararea masei uscate din variantele studiate s-a stabilit că cea mai mare masă uscată s-a acumulat în plantele bacterizate cu tulpina RD₂ – 44,1 g, au urmat apoi plantele tratate cu tulpina RRA₈ – 43,2 g. Varianta RRA₈+RD₂ 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.2).

Tabelul 2. Acțiunea bacteriilor de rizosferă asupra formării și activității sistemului rizobio-radicular la soia. *Experiență de câmp, a.2010 (s. Băcioi)*

Varianta	Nr. de nodozități, buc., M±M	Masa brută a nodozităților Adaos față de martor		Fixarea N ₂ atmosferic	
		g, M±M	%	mkg N ₂ /pl/oră	De câte ori s-a majorat activitatea
Martor (semințe netratate)	7,0±3,38	0,41±0,19	-	12,13	-
RD ₂ (bacterizarea semințelor)	32,5±0,82	2,88±0,32	602,4	250,26	20,6
RRA ₈ (înmuierea semințelor în metaboliți)	7,0±1,93	0,85±0,18	107,3	139,06	11,5
RRA ₈ +RD ₂ (înmuierea semințelor în metaboliții RRA ₈ și bacterizarea cu RD ₂)	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 RRA₈+RD₂ cu o medie de 10,6 buc., apoi RRA₈ 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 Rh. japonicum RD₂ (250,26 mkg N₂/pl/oră), urmat de bacteriile RRA₈+RD₂ (167,62 mkg N₂/pl/oră) și

RRA₈ (139,06 mkg N₂/pl/oră). Capacitatea azotofixatoare a microflorei spontane a martorului a fost de 12,13 mkg N₂/pl/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 RRA₈ și de 1,5 ori față de combinația RRA₈+RD₂ (vezi tabelul 2).

În faza de coacere deplină a soiului, înainte de recoltarea ei, de pe fiecare parcelă au fost colectate câte 10 plante pentru aprecierea structurii recoltei. Datele obținute sunt incluse în tab.3.

Tabelul 3. Structura recoltei de soia soiul Zodiac. *Experiență în condiții de producere (s. Băcioi) /Date medii la 10 plante/*

Varianta	Păstăi formate (total)		Păstăi valoroase		Masa boabelor	
	buc., M±m	Adaos, %	buc., M±m	Adaos, %	g, M±m	Adaos, %
Martor (semințe netratate)	329,5±24,1	-	300,5±3,9	-	76,24±7,46	-
RD ₂ (bacterizarea semințelor)	380,5±51,5	15,5	352,5±47,6	17,3	93,35±13,4	22,4
RRA ₈ (înmuierea semințelor în metaboliți)	352,6±24,8	7,0	316,1±20,8	5,2	85,71±11,1	12,4
RRA ₈ +RD ₂ (înmuierea semințelor în metaboliții RRA ₈ și bacterizarea cu RD ₂)	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 bacterizate cu tulpina bacteriei *Rh.japonicum* RD₂ (22,4% față de martor). Ceva mai mic a fost adaosul la recoltă în cazul înmuierei semințelor în metaboliții bacteriei *Ps.sp.RRA₈* (+12,4%) și numai 9,2% a fost adaosul în varianta dublu tratament: înmuierea semințelor în metaboliții tulpinii RRA₈ și bacterizarea ulterioară a semințelor cu tulpina RD₂. 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 de tip Niva. Recolta este prezentată în tab.4.

Tabelul 4. Influența bacteriilor de rizosferă asupra recoltei (Soia, soiul Zodiac. *Experiență de câmp s. Băcioi*).

Varianta	Recolta de boabe, kg/parcelă, M±m	Adaos la recoltă	
		kg/parcelă	%
Martor (semințe netratate)	9,8±0,51	-	-
RD ₂ (bacterizarea semințelor)	11,05±0,42	1,25	12,8
RRA ₈ (înmuierea semințelor în metaboliți)	10,75±0,20	0,95	9,7
RRA ₈ +RD ₂ (înmuierea semințelor în metaboliții RRA ₈ și bacterizarea cu RD ₂)	10,35±0,28	0,55	5,6

În rezultatul recoltării cea mai mare cantitate de boabe a fost obținută în varianta bacterizată cu RD₂ (11,05 kg/parcelă), urmată de varianta în care semințele au fost înmuiate în metaboliții bacteriei RRA₈ (10,75 kg) și varianta mixtă (10,35 kg), unde semințele inițial au fost tratate cu metaboliții tulpinii RRA₈, iar apoi bacterizate cu RD₂. 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 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 *Ps.sp. RRA₈* și bacterizarea ulterioară cu RD₂.

CONCLUZIE

A fost confirmat în condiții de producere efectul pozitiv al tratării semințelor de soia înainte de semănat cu bacterii de nodozități (tulpina *Rhizobium japonicum* RD₂) și bacterii stimuloare (tulpina *Ps.sp.RRA₈*) și stabilit modul de folosire a lor.

Bibliografie

1. *Verghese H.* // UNIDO, 1978, p.1-3.
2. *Douglas J. H.* // *Sci. News*, 1975, 108, nr.20, p. 314-315.
3. *Rohweder D.A. et al.* // *Crops a Soils*, 1977, Nr. 3. p.11-14.
4. *Sessitsch A., Reiter B., Berg G.* *Endophytic bacterial communities of field-grown potato plants and plant-growth promoting and antagonistic abilities.* // *Can. J. Microbiol.* 2004, 50, Nr.4, p.239-249.
5. *Bhatia Ranjana, Ruppel Silke, Narula Neeru* // *Diversity studies of Azotobacter spp. from cotton-wheat cropping systems of India* // *J. Basic Microbiol.* 2008, 48, Nr.6, p. 455-463.
6. *Kuklinsky-Sobral Julia et all.* *Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion.* // *Environ. Microbiol.*, 2004, 6, Nr.12, p. 1244-1251.
7. *Khalid A., Arshad M., Zahir Z.A.* *Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat.* // *J. Appl. Microbiol.*, 2004, 96, Nr.3, p. 473-480.
8. *Hardy R. et all.* *The acetylene-ethylen essay for N₂-fixation laboratory and field evaluation.* // *Plant Physiol.*, 1968, 43 Nr.8, p. 1185-1207.
9. *Dospehov B. A.* *Metodica polevogo opyta.* // *M. Agropromizdat*, 1985.

Recomandat spre publicare: 16.01.2011.