

BACTERIILE DIN RIZOSFERA SOIEI ȘI POSIBILITATEA UTILIZĂRII LOR ÎN CALITATE DE STIMULATORI

*S. Prisacari, L. Onofraș, V. Todiraș
Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM*

ÎNTRUDUCERE

După conținutul de albumină soia ocupă unul din primele locuri printre culturile cerealiere, fapt pentru care ea este considerată de o importanță primordială în ceea ce privește obținerea albuminei vegetale la un cost redus. Prin sporirea productivității ei ar fi posibilă producerea albuminei vegetale atât pentru alimentarea populației cât și în scop de utilizare în calitate de furaj. Cât despre sporirea productivității apoi în cazul acestei culturi există posibilitatea folosirii pe scară largă a “îngrășămintelor biologice” sub formă de microorganisme fixatoare de azot disponibilizatoare ale fosforului și altor macro- și microelemente din sol, microorganisme cu capacitate de stimulare a proceselor de creștere și dezvoltare la plante.

Este bine cunoscut faptul că zonele de rizosferă și rizoplană a plantelor sunt populate de microorganisme, care în rezultatul activității vitale degajă în mediul înconjurător diverse substanțe biologice active stimuloare ale proceselor de creștere și dezvoltare la plante. Aceste microorganisme prezintă un interes deosebit atât pentru sporirea productivității plantelor cât și protecției mediului ambiant într-o măsură oarecare devenind alternative ale îngrășămintelor minerale și minimalizând impactul negativ al acestora asupra omului și mediului înconjurător.

Sub acest aspect bacteriile azotofixatoare cât și ciupercile de micoriză prezintă un exemplu incontestabil al avantajului ce poate fi obținut în rezultatul utilizării microorganismelor de rizosferă. Conform ultimelor date din categoria fixatorilor de azot sunt excluse numai eucariotele (ciuperci), plantele și animalele [1,2].

În afară de microorganismele simbiotrofe în caz de necesitate, pentru înlesnirea procesului de creștere la plante pot fi folosite unele bacterii de rizosferă liber trăitoare în sol. În baza lor se produc deja și se comercializează diferite biopreparate în special pentru agricultură, restabilirea pădurilor și purificarea solurilor [3]. Bacteriile respective pot coloniza zona de rizosferă a plantelor, formând populații de densitate mare capabile să stopeze activitatea negativă a fitopatogenilor [4].

Au fost stabilite diferențe considerabile în densitatea populațiilor de bacterii (endo- și epifite) la două soiuri de soia (Foscarin și Cristalîn) în dependență de anul de cultivare, faza de creștere a

plantei și țesutul din care au fost izolate bacteriile, majoritatea aparținând familiilor Pseudomonaceae, Burkholderiaceae și Enterobacteriaceae. În baza selecției, reieșind din capacitatea de a produce acidul indolil acetic (AIA) și de a solubiliza fosforul din compușii solubili a fost apreciată posibilitatea de a stimula creșterea a plantelor. Din totalul bacteriilor endofite 34% au produs AIA și 49% au dizolvat fosforul aflat în formă minerală pe când dintre bacteriile epifite 29% au produs AIA, 52% demonstrând capacitatea de disponibilizare a fosforului. Destul de frecvent erau prezenți reprezentanții posesori ai proprietății de producere a AIA la soiul Foscarin în cazul maturizării timpurii a plantelor pe când cei solubilizatori ai fosforului erau semnalati în faza inițială de dezvoltare a plantei. S-a constatat de asemenea că 60% din reprezentanții endofiți și 69% din cei epifiți ce produce au AIA fi solubilizau fosforul mineral capabil de a fixa azotul în vitro. Asociate cu soia, bacteriile stimuloare ai creșterii plantelor au fost identificate ca aparținând genurilor *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Enterobacter*, *Pantoea*, și *Acinetobacter* [5].

În cazul cultivării soiei și sorgului în rânduri perindate s-a apreciat componența cantitativă și calitativă a microflorei din rizosferă în timpul semănatului, în perioada formării organelor generative și recoltării. S-a demonstrat că cultivarea în comun a acestor plante se reflectă pozitiv atât asupra dezvoltării microflorei din sol cât și a formării nodozităților la soia. Cantitatea totală de microorganisme în semănăturile mixte a fost mai ridicată, iar din punct de vedere calitativ – mai diferențiată, fapt ce ține de varietatea considerabilă a eliminărilor radiculare și substratelor nutritive. S-a îmbunătățit situația fitosanitară a solului datorită diminuării cantitative a microorganismelor convențional patogene în sol și rizosfera plantelor [6].

În scopul selectării tulpinilor de bacterii cu capacitate de stimulare a procesului de creștere a plantelor, noi, în componența laboratorului, pe parcursul a.a. 2006-2007 am colectat probe de sol și plante în diverse zone pedo-climaterice ale Moldovei din rizosfera și rizoplana cărora am izolat apoi cca 100 tulpini de microorganisme.

Procesul de izolare a fost efectuat pe mediile nutritive King B și cu conținut de extract din fasole nr.23. Ulterior, folosind diferite plante-teste, am determinat capacitatea de stimulare acestor bacterii. În experiențe au fost luate în evidență capacitatea de

germinare a semințelor, masa brută și uscată a plantulelor obținute din aceste semințe. Pentru aprecierea capacității de stimulare s-au folosit suspensiile bacteriilor aflate în proces de cercetare obținute prin cultivare în medii nutritive lichide în condiții de agitare. După agitare suspensiile respective au fost diluate în proporția de 1:300, 1:500, 1:1000 conform metodei recomandate de Iu. Vozneakovskaya [7]. În calitate de martor a fost folosită apa de robinet. În aceleași concentrații suspensiile respective au fost utilizate în scopul determinării capacității de formare a sistemului radicular având drept plantă-test butașii de fasole [8]. În acest caz s-au luat în evidență atât numărul rădăcinilor formate cât și dimensiunile zonei de extindere a rădăcinilor. Prelucrarea matematică a

rezultatelor obținute s-a efectuat de asemenea conform metodei propuse [7].

REZULTATELE OBȚINUTE

S-a stabilit că bacteriile supuse cercetărilor posedă capacitatea de a stimula atât procesul de germinare al semințelor cât și de acumulare a biomasei. În toate variantele germinarea semințelor a fost la nivelul de 100%. Din datele prezentate în tab. 1 reiese că cele mai bune rezultate au fost obținute în cazul tulpinilor R-D5, Tl-F1, Fl1 și Tl-F2, suspensiile cărora au fost diluate în proporție de 1:300. Rezultate pozitive au demonstrat și tulpinile R-D4, Osp și Eck1 în diluarea 1:500, iar tulpina Eck3 – în diluarea 1:1000.

Tabelul 1. Influența lichidului nativ al microorganismelor de rizosferă asupra proceselor de germinare a semințelor, acumulare de masă brută și uscată a porumbului (Exp. de laborator. Date medii din 20 plantule).

<i>Varianta</i>	<i>Diluarea</i>	<i>Masa brută a plantulelor, g. M ± m</i>	<i>Adaos față de martor, %</i>	<i>Masa uscată a plantulelor, g. M ± m</i>	<i>Adaos față de martor, %</i>
Martor (apă)	-	4.08±0.22	-	0.46±0.01	-
R-D5	300	5.17±0.68	26.63	0.54±0.02	17.66
R-D4	500	4.35±0.15	6.70	0.51±0.02	10.06
Fl1	300	3.63±0.28	-	0.49±0.02	7.54
Tl-F1	300	5.35±0.13	31.21	0.52±0.01	12.64
Eck3	1000	4.51±0.32	10.62	0.53±0.02	14.18
Osp	500	4.22±0.12	3.35	0.52±0.02	12.44
Tl-F2	300	4.77±0.44	16.99	0.52±0.03	14.09
Eck1	500	4.44±0.64	8.82	0.52±0.07	12.99

În experiența menționată s-a evidențiat tulpina R-D5 unde masa brută și uscată a plantulelor s-a majorat cu respectiv 26,63 și 17,66%. Cea mai mică activitate a fost semnalată la tulpina Fl1, unde a crescut numai cantitatea de masă uscată cu 7,54%. Celelalte bacterii au favorizat majorarea biomasei brute cu 3,35-31,21%, iar celei uscate – cu 10,06-14,18% față de martor. Tulpina Tl-F1 a contribuit de asemenea la acumularea unei cantități sporite de masă brută față de celelalte tulpini. Într-o altă serie de experiențe, destinate formării sistemului radicular la butașii de fasole, sub influența metaboliților bacteriilor menționate am stabilit, că efectul stimulator și în cazul dat depinde atât de natura microorganismului cât și de gradul de diluare a metaboliților (tab.2). Unele bacterii au contribuit numai la extinderea zonei de formare a sistemului radicular, altele – numai asupra numărului de rădăcini. Au fost și tulpini care au acționat atât asupra măririi zonei de formare a rădăcinilor cât și asupra numărului lor, dar și din cele ce nu au avut nici un efect în ceea ce privește stimularea proceselor de formare a rădăcinilor. În experiența 1 (tab.2) metaboliții tulpinii Eck5 diluați

în proporția de 1:300 au condus la stimularea procesului de fixare a rădăcinilor atât numeric, cât și pe suprafață cu 10,0 și respectiv 10,61%. Celelalte tulpini au influențat numai asupra unui parametru. În cea de a doua experiență toate tulpinile experimentate (cu excepția tulp. Eck2) au favorizat formarea sistemului radicular atât în plan numeric cât și ca extindere pe suprafața butașilor respectiv cu 19,87-41,22% și 1,59-16,67%. Cel mai bun rezultat a fost obținut sub influența metaboliților bacteriei Eck3 diluați în proporția de 1:1000.

În cea de a treia experiență toate tulpinile experimentate au avut un efect considerabil asupra formării rădăcinilor sporind numărul lor cu 23,03-46,27%, iar zona de depunere cu - 16,22-32,43% excepție făcând doar tulpina R-D5. S-a evidențiat pozitiv în această experiență tulpina R-D4 în cazul diluării metaboliților în proporția de 1:500. În cea de a patra experiență rezultatele obținute au fost mai modeste în ceea ce privește numărul de rădăcini, iar zona de extindere a atins chiar valori negative. În rezultatul analizei datele obținute s-au făcut următoarele concluzii:

Tabelul 2. Influența metaboliților bacteriilor de rizosferă asupra formării rădăcinilor la butașii de fasole (Exp. de laborator. Date medii la 1 butaș).

Varianta	Diluarea	Numărul de rădăcini, buc. M ± m	Adaos față de martor, %	Zona de depunere a rădăcinilor, cm, M ± m	Adaos față de martor, %
Experimentul 1					
Martor (apă)	-	30.0±2.6		4.37±0.5	-
Есп4	300	28.0±5.6	-	4.80±1.5	9.09
L8	1000	24.7±4.0	-	4.53±0.4	3.03
L11	300	31.0±3.0	3.33	3.87±1.0	-
Еск5	300	33.0±6.2	10.00	4.87±1.1	10.61
Experimentul 2					
Martor (apă)	-	20.3±4.0		4.20±0.5	-
Еск2	500	24.3±7.6	19.87	3.40±1.2	-
Еск3	1000	28.7±2.9	41.22	4.77±1.3	13.49
TI-F7	1000	24.3±3.2	19.87	4.27±0.2	1.59
Cr8	500	26.7±3.2	31.36	4.87±1.6	15.87
Оск	300	27.0±12.2	33.00	4.40±1.2	4.76
Оск2	1000	26.7±9.3	31.36	4.90±1.5	16.67
Experimentul 3					
Martor (apă)	-	23.7±5.0		3.70±1.04	-
R-D4	500	34.7±7.6	46.27	4.90±2.02	32.43
Осп1	500	30.0±8.0	26.58	4.80±0.80	29.73
TI-F2	1000	29.3±7.5	23.77	4.30±0.70	16.22
R-D5	1000	28.7±7.5	23.03	3.67±0.60	-
Experimentul 4					
Martor (apă)	-	23.3±7.0		3.83±0.4	-
Еск1	300	28.8±12.1	23.39	3.40±1.1	-
Оск3	1000	25.0±2.8	7.30	3.38±0.8	-
TI-F1	300	29.5±5.4	26.61	3.75±0.6	-
F11	300	26.5±6.2	13.73	3.80±0.2	-
L5	500	24.8±5.3	6.22	3.95±0.9	3.95

1. Din numărul total de bacterii izolate din zonele de rizosferă și rizoplană a plantelor de soia (cca 100) după testări prin diferite metode 19 tulpini s-au evidențiat prin calitățile lor stimulative față de plantele de cultură: porumb, fasole.

2. Efectul stimulator al bacteriilor de rizosferă depinde de propriile calități ale tulpinii concrete și concentrația metaboliților folosiți la prelucrarea semințelor (plantelor).

3. Unele bacterii din totalul celor supuse testării pot spori procesul de acumulare a masei brute la porumb cu 10-26% (tulp. TI-F2, Eck3).

4. Prin intermediul bacteriilor de rizosferă poate fi majorat numărul rădăcinilor la plantă cu 31-46%, iar zona de depunere a lor cu 4-32% (tulp. Cr8, Ock2, Ock, Eck3, R-D4).

5. Tulpinile de bacterii remarcate în concluziile 3 și 4 pot servi drept obiecte de studiu în scopul producerii biopreparatelor pentru stimularea proceselor de creștere și dezvoltare la soia, porumb, fasole.

Bibliografie

1. **Rosario de Filipe Anton Ma.** Interacciones microorganismos – sudo planta an la reservacion del Medio Ambiente y la salud// An. Real. acad. noc. farm. – 2004-70, №3 – p. 743-766.

2. **Dobrovolskii G.V., Umarov M.M.** Pochva microby i azot v biosfere // Priroda, Rossia) – 2004 - №6 – s. 15-22, 12.

3. **Lucz M., Reed E., Glick Bernard R.** Applications of tree living plant growth-promoting rhizobacteria// Antonie van Leenwenhock [ЭИ] – 2004-86, №1, - p. 1-25.

4. **Hu Jiangchun, Xue Delin, Chengxin M.A., Wang Shujin.** Uspeshi i izuchenie stimuliruyushih rizobacterii i perspective ih primeneniya//Yingyong Shengtai xuebao. Chin. J. Appl.Ecol. -2004. – 15, №10 –p. 1963-1965.

6. **Kuklinskz-Sobral Julia Acanjio Welington Luiz et.al.** Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and thir potential for plant growth promotion//Erwiron Microbiol [KЭ]-2004 -6, №12 –p. 1244-1251.

7. **Nazariko M.D., Șcerbacov V.G.** Vliyanie pochvennoj microflory na ekologiyu zlacovyh i bobovyh rastenij v sovместnyh posevah//Izv. vuzov Pishhev. tehnol.-2004-№2-3.-s. 119-121.

8. **Vozneacovskaia Iu.M.** Microflora rastenij i urojai//L. Kolos, 1969,-240s.

9. **Turețkaia R.H.** Metod opredeleniya aktivnosti veshhestv, stimuliruiushih korneobrazovanie.// V kn.: Metody opredelenija regulyatorov rosta i gerbicidov. M., Nauka, 1966, s. 15-16.

Recomandat spre publicare: 31.05.2008