

***Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* IN COMBATEREA LARVELOR GÂNDACULUI DIN COLORADO**

Zavtoni Pantelimon ^{1,*}, <https://orcid.org/0000-0003-1841-0086>

Goncharuk Violeta², <https://orcid.org/0000-0003-2992-1690>

¹ Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al USM, Chișinău,

² Institutul de Chimie Bioorganică, Academia Națională de Științe din Belarus, Minsk

* e-mail: pantelimon.zavtoni@sti.usm.md

Summary. The action of entomopathogenic bacteria in combination with FP-09 was determined in the fight against the larvae of the first and third instars of the Colorado beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) in the second generation in field conditions on the "Marabel" variety potato crop, where the biological effectiveness of the variant *Bacillus thuringiensis* 10⁸ + FP-09 constituted 76.6%. And the biological effectiveness of the entomopathogenic suspension of *Bacillus thuringiensis* in the control of first-third instar larvae in the variant with FP-09 in combating *Leptinotarsa decemlineata* larvae was 6.8%. On the potato lots where a solution of the entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis*, FP-09 was used, several entomophages were observed.

Keywords: *Bacillus thuringiensis* sp. *thuringiensis*, insecticidal activity, plant protections.

Introducere

După studiile întreprinse de Organizația Națiunilor Unite pentru Alimentație și Agricultură (FAO), nivelul actual al producției agricole pe plan mondial și ritmul acesteia de creștere se consideră nesatisfăcătoare. Întrucât aproape 1 miliard (fiecare al cincilea) din populația globului suferă de subnutriție și doar 1/3 din populația globului se alimentează suficient. Aproape jumătate din populația globului are o alimentație necorespunzătoare, de numai 20-70 calorii de persoană pe zi, față de 3000-3250 calorii de persoană pe zi, cât revine în țările din Europa și America de Nord.

Combaterea biologică a dăunătorilor este piatra fundamentală a conceptului de luptă integrată, care nu poluează mediul ambiant, fiind în același timp economică și de lungă durată. Metodele biologice de combatere în comparație cu alte metode, prezintă o serie de avantaje: lipsa de toxicitate pentru oameni și animale; acționează numai asupra speciilor dăunătoare, protejând entomofauna utilă și ca urmare, se menține echilibrul biocenotic; nu prezintă pericol de poluare.

Combaterea microbiologică a dăunătorilor se desfășoară pe două căi: prin acțiunea „agenților regulatori permanenți” și prin utilizarea biopreparatelor pe bază de virusuri, bacterii, ciuperci. Tratamentele microbiologice pot fi aplicate sub formă de stropiri sau prafuri, folosind pentru tratare aceleași aparate ca și la combaterea chimică. Cele mai bune rezultate se obțin dacă tratamentele microbiologice sunt aplicate în perioada când omizile se găsesc în vârstele I-a și a II-a, și manifestă o sensibilitate mai ridicată la infecția microbiană (Busuioc, 2006).

Biopreparatele pot fi folosite singure sau în amestec cu doze scăzute de insecticide și alte produse. Cunoașterea profundă a particularităților biologice ale dăunătorilor și a relațiilor lor cu organismele utile. Organismele dăunătoare posedă anumite particularități biologice, care se manifestă printr-o adaptivitate sporită la diferite fenomene negative, inclusiv la pesticide, care deși sunt comune tuturor organismelor, totuși le asigură un grad ridicat de plasticitate ecologică. Doar cunoscând aceste particularități și luând în considerație condițiile concrete ale mediului, devine posibil controlul densității populațiilor de insecte, agenți patogeni și buruieni (Voloșciuc, 2009, 2014).

O aplicare largă au insecticidele bacteriene pe baza microorganismelor sporifere *Bacillus thuringiensis*- element natural al biocenozei. Pentru prima dată bacteriile de acest gen au fost izolate din insecte, următoarele cercetări arată răspândirea largă a lor în mediul înconjurător. Unii autori

anunță prezența acestor bacterii în sol și frunze. În lucrările de specialitate se demonstrează prezența bacteriilor în insecte, în așternutul animalelor și pe pășuni (Кузнецова, 2012).

Aplicarea preparatelor biologice, care deja și-au demonstrat avantajele tehnologice și economice față de cele surse biologice de protecție a plantelor, poate deveni o realitate doar la extinderea permanentă a gamei agenților biologici aplicați la baza elaborării mijloacelor unei game extinse de mijloace de protecție a plantelor și omologarea națională și internațională a acestora (Voloșciuc, 2018, 2019).

Cu colegii Institutului de Chimie Bioorganică, Academia Națională de Științe din Belarus, Minsk, pentru prima dată s-a obținut complexe a derivaților acidului *para*-aminobenzoic (pABA) cu bacterii din genul *Bacillus* cu acțiune stimulatorie de creștere și de combatere a dăunătorilor, ceea ce va reduce semnificativ numărul de tratamente chimice (Zavtony și al., 2023).

Scopul cercetării noastre au fost bacteriile entomopatogene *B. thuringiensis* în amestec cu FP-09 la protecția culturii cartofului.

Materiale și metode

Ca obiect de studiu a fost utilizat larvele Gândacului din Colorado (*Leptinotarsa decemlineata*) de vârsta întâia și a treia la lotul de cartof amplasat pe baza experimentală al IGFP al USM. La cercetări s-au aplicat bacteriile entomopatogene de *B. thuringiensis*. Pentru selectarea tulpinelor, cu acțiune antagonistă față de fitofagii de origine bacteriană au fost utilizate culturi de *B. thuringiensis* din colecția națională de microorganisme nepatogene și alte culturi izolate din larve colectate din condiții naturale de Coleoptere. Larvele de Coleoptere infectate cu *B. thuringiensis* a fost colectate din natură și aduse în laborator și a fost examinate la microscop. Modificările patologice se exprimă la larve de Coleoptere printr-o culoare închisă.

Pentru cultivarea tulpinilor bacteriene a-u fost utilizate medii nutritive agarizate și lichide, specifice fiecărei specii. Însămânțările microorganismelor a-u fost efectuate în conformitate cu metodele aplicate în practica microbiologică.

Pentru izolarea, cultivarea a *B. thuringiensis* sunt utilizate medii de cultură. Mediile pot fi lichide sau solidificate ca agar. Agarul este un fitocoloid, alcătuit din doua polizaharide: agaroză (cca 70%) și agaropectinază (în cea mai mare parte galacturonază) obținute din diferite alge roșii marine (din grupul Rhodophytae), medii din cartof- glucoză-agar.

Titrul s-a determinat cu ajutorul camerei Goreaev prin calea spălării bacteriilor la 1 litru de apă de pe mediul nutritiv ori diluția mediului lichid până la 1 litru.

Titrul s-a calculat după formula

$$T = 25,10^4 \times A \times D,$$

A- numărul mediu de bacterii într-un pătrat mare

D- diluții

T- titrul suspensiei bacteriene la 1 ml

Ținând cont de faptul că moartea insectelor testate mai poate fi cauzată și de alți factori ce nu țin de potențialul de infecție ai bacteriilor, pentru determinarea activității biologice a preparatelor se aplică formula Abbot, care ia în considerație și mortalitatea larvelor în control:

Procentul mortalității larvelor s-a calculat după Abbot:

$$P = \frac{(Mc - Mo)}{100 - Mc} \times 100$$

unde P - activitatea biologică exprimată în procentul de mortalitate a insectelor,

Mo - larve moarte în experiență % ;

Mc - larve moarte în martor %.

Pentru determinarea activității biologice a bacteriilor se mai aplică și timpul letal (TL_{50}), care indică la timpul necesar pentru obținerea a 50% de mortalitate a larvelor. Acest indice se determină în mod analogic înregistrând rezultatele după diferite intervale de timp.

Prelucrările s-au efectuat la larvele de vârsta întâia a treia a dăunătorului *L. decemlineata*. Experiența cu aplicarea bacteriilor entomopatogene de *B. thuringiensis*. var. *thuringiensis*, s-a

efectuat conform îndrumărilor standard (Lazar, 2002) în 5 variante (Martor, *B. thuringiensis*, FP-09, Et. Coragen) cu 3 repetiții randomizate, în conformitate cu cerințele generale ale experiențelor (Доспехов, 1985).

Cercetările au fost efectuate pe lotul experimental al Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al Universității de Stat a Republicii Moldova. Obiectele cercetării au fost suspensii de bacterii entomopatogene *B. thuringiensis*, var. *thuringiensis*.

Rezultate și discuții

Condițiile climaterice ale anului curent - 2023 în perioada efectuării experiențelor se caracterizează printr-o varietate destul de variată.

Datorită poziției Republicii Moldova în sud-estul continentului european, circulația atmosferică se caracterizează prin acțiunea cu prioritate a centrelor barice specifice Europei meridionale și de sud-est. După importanța lor pentru aspectele de vreme și de climă pe care le determină, aceștia sunt: ciclonii mediteranieni, anticicloul siberian, anticicloul azoric și anticicloul scandinav. Masele de aer care se deplasează între principalele centre barice ajung deasupra Republicii cu caracteristici fizice modificate datorită transformării lor, determinând succesiunea stărilor de vreme din Republica Moldova.

În luna aprilie temperatura minimală a variat de la 5,0°C până la 7,8°C cu temperatura medie lunară de la 7,4°C până la 10,7°C. Cantitatea de precipitații în luna aprilie a atins nivelul de 133,0 mm. Cantitatea de precipitații au fost înregistrate în decurs de 17 zile a lunii aprilie.

Indicii care caracterizează nivelul temperaturii în luna mai a crescut în comparație cu luna aprilie. În prima și a doua a decadei a lunii temperatura minimală a constituit 11,7°C - 15,4°C, cu un nivel al temperaturii maxime de la 12,4°C până la 20,2°C. Temperatura medie lunară a atins nivelul de 17,2°C - 24,9°C. În luna mai cantitatea de precipitații a constituit 13,0 mm, ceea ce constituie un nivel mai redus de cât în luna aprilie.

Trebuie de menționat, că indicii de temperatură s-au menținut pe tot parcursul efectuării experiențelor. Temperatura medie în luna iunie s-a menținut la nivelul de 20,5°C, iar în prima decadă și în decada a treia 23,5°C. Nivelul temperaturii maxime a constituit 25,5°C. Cantitatea de precipitații a constituit 20 mm. Luna iulie temperatura medie în perioada data a variat de la 25,5°C până la 30,0°C. Cantitatea de precipitații a fost 1,0 mm.

Nivelul temperaturii în luna august a crescut de la 28,1°C până la 33,4°C, precipitații a constituit 2 mm.



Figura 1 (a, b, c). Atacul dăunătorului Gândacul din Colorado la lotul experimental de cartof, soiul „Marabel”

În figura 2 se observă numărul larvelor înregistrate de *L. decemlineata*, la cultura de cartof, soiul „Marabel”, înainte de prelucrare și după prelucrare. În martor numărul larvelor s-a majorat de la 22,6 până la 35,2 larve, iar în varianta *B. thuringiensis* 10⁸ înainte de prelucrare a fost 17,5 larve și după prelucrare a scăzut până la 4,8 larve. În varianta *B. thuringiensis* 10⁸ + FP - 09 înainte de prelucrare a fost 17,1 larve și după prelucrare a scăzut până la 4,0 larve.

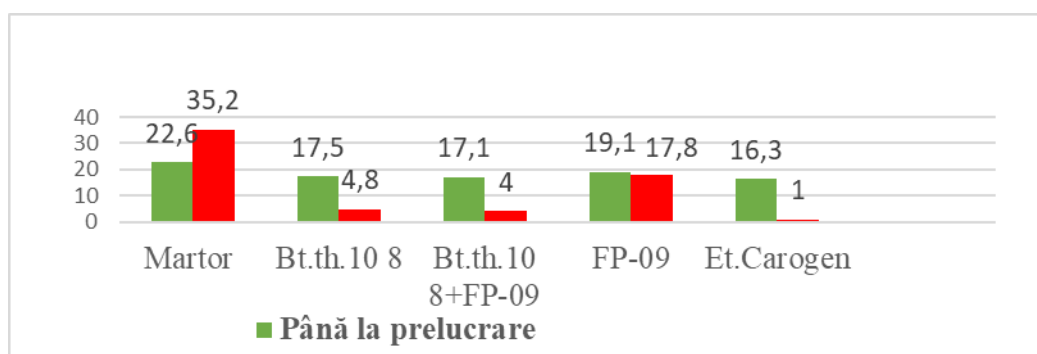


Figura 2. Numărul larvelor înregistrate de *Leptinotarsa decemlineata*, la cultura cartofului, soiul „Marabel” înainte și după prelucrare

Analizând datele expuse în tabel, putem menționa, că s-a determinat acțiunea bacteriilor entomopatogene în combinație cu FP-09 în combaterea larvelor de vârstă întâia a treia a Gândacului din Colorado (*L. decemlineata*) la a doua generație în condiții de câmp la cultura de cartof soiul „Marabel”, unde eficacitatea biologică la varianta *B. thuringiensis* 10⁸ + FP-09 a constituit 76,6 %.

Tabel

Eficacitatea biologică a suspensiei entomopatogene de *B. thuringiensis* în sinergie cu FP-09 în combaterea dăunătorului *L. decemlineata* la cartof, soiul „Marabel” II generație

Nr. d/r	Varianta	Titru 10 ⁸ UFC/ml	Până la preluc. larve / 10 plante	După prelucrare larve/10 plante la zi				Eficacitatea biologică, %
				3	5	7	9	
1	Martor		22,6	24,0	28,1	30,6	35,2	-
2	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>thuringiensis</i>	10 ⁸ UFC/ml	17,5	15,2	7,9	5,9	4,8	72,5
3	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>thuringiensis</i> + FP - 09	10 ⁸ UFC/ml + 50g	17,1	15,2	8,3	6,2	4,0	76,6
4	FP - 09	50g.	19,1	18,3	17,3	16,3	17,8	6,8
5	Et. Coragen 20 SC	0,06 l/ha	16,3	3,2	2,0	1,0	1,0	93,8
	DEM							2,3

Pe loturile de cartof unde s-au folosit suspensii a bacteriilor entomopatogene de *B. thuringiensis*, FP-09 au fost observați mai mulți entomofagi ca: Zicrona albastră (*Zicrona caerulea*) și *Perillus bioculatus* și alți entomofagi.

Concluzii

Eficacitatea biologică a bacteriilor entomopatogene *Bacillus thuringiensis* 10⁸ în combinație cu FP- 09 pentru combaterea larvelor de vârstă L₁-L₃ a Gândacului din Colorado (*Leptinotarsa decemlineata*) la a doua generație în condiții de câmp la cultura de cartof soi „Marabel”, a constituit 76,6 %

S-a determinat acțiunea în controlul larvelor de vârstă L₁-L₃ în varianta cu FP-09 unde eficacitate biologică în combaterea larvelor de *L. decemlineata* a constituit 6,8%.

Ca rezultat se poate observa în varianta bacteriilor entomopatogene *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* 10⁸ UFC/ml unde eficacitatea biologică a fost de 72,5%, față de etalonul chimic care a avut o eficacitate de 93,8%.

Notă. Cercetările au fost realizate în cadrul subprogramului 011103 „*Elaborarea mijloacelor ecologic inofensive de reducere a impactului organismelor dăunătoare ale culturilor agricole pe fundalul schimbărilor climatice*”, finanțat de Ministerul Educației și Cercetării al RM

Referințe bibliografice

1. Busuioc Mihai. Entomologie agricolă: Manual pentru studenți, instituții de învățământ superior agronomic. Centrul Ed. al UASM, Chișinău, 2006. 639 p. ISBN 978-9975-64-020-6
2. Îndrumări metodice pentru testarea produselor chimice și biologice de protecție a plantelor de dăunători, boli și burueni în Republica Moldova (red. dr. I. Lazar). Chișinău, Tipografia Centrală, 2002, 239 p.
3. Voloșciuc L. Biotehnologia producerii și aplicării preparatelor baculovirale în agricultura ecologică. Chișinău: Bons Offices, 2009. 264 p. ISBN 978-9975-9774-5-6.
4. Voloșciuc L. Combaterea integrate a Organismelor dăunătoare (Ghid). Chișinău. Federația agricultorilor din Moldova. 2018. 65 p.
5. Voloșciuc L. Producerea culturilor cerealiere și leguminoase pentru boabe în system ecologic. Chișinău. IGFP, 2019. 92 p. ISBN 978-9975-3231-3-0.
6. Voloșciuc L. Protecția integrată a plantelor și calitatea produselor agricole. In: Akademos, nr. 3. Vol. 34. 2014, p. 71. ISSN 1857-0461.
7. Zavtony P., Stingaci A., Scerbacova T., Samoilova A., Goncharuk V., Lisouskaya M., Mihalichiuk A. Eficacitatea tratării plantelor la cartof cu suspensii de bacterii entomopatogene în sinergie cu derivații al acidului para-aminobenzoic. In: *Protecția Plantelor - realizări și perspective* Simpozion științific internațional (Ediția VII-a), Chișinău, 2-3 octombrie 2023, p. 245-250. (Information Bulletin EPRS/IOBC Section). ISBN 978-9975-62-563-0. <https://doi.org/10.53040/ppap2023.02>
8. Кузнецова Л.Н. Выделение и биотестирование активных штаммов энтомопатогенных бактерий *Bacillus thuringiensis* berliner из насекомых природных популяций Крыма. In: Институт сельского хозяйства Крыма НААН, Гвардейское, Украина. «Биология химия». Том 25 (64). 2012. № 3. с. 89-94. УДК 579.64:632.937.3.