CZU: [634.491+634.11] :631.811 https://doi.org/10.53040/ppap2023.33

STUDIU EFICACITĂȚII COMPLEXE AL AGENȚILOR BIOLOGICI LA MĂR ȘI CARTOF LA TEMPERATURI RIDICATE

STINGACI Aurelia[1*], ZAVTONY P[1**]., SCERBACOVA Tatiana[1], SAMOILOVA Anna[1***] , GONCHARUK Violeta[2****], LISOUSKAYA Maria[2], MIHALICHIUK Al.[2]

[1] Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al USM, Chișinău, Republica Moldova
[2] Institutul de Chimie Bioorganică, Academia Națională de Științe din Belarus, Minsk
** https://orcid.org/0000-0001-6621-9919,*
***https://orcid.org/0000-0003-1841-0086,*
****https://orcid.org/0000-0003-4976-0644,*
****** https://orcid.org/0000-0003-2992-1690,*
e-mail: aurelia.stingaci@gmail.com

Summary. Products of microbial origin in combination with para-aminobenzoic acid (PABA) derivatives, can be the basis for organic farming and plant resistance to unfavorable environmental factors inducing, as well as for the crop yield increasing. The article presents the results of the study of efficiency of fruit-cultures and potato plantations treatment with aqueous suspensions of entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* with addition of para-aminobenzoic acid derivatives solutions in concentrations 10^{-2}, 10^{-4}, 10^{-6} mol/l. An increase in the average weight of fruits and tubers and a reduction in disease and insect damage were observed in all variants of the experiment compared to the control. The studied derivatives exhibited higher biological activity at the lower concentration than PABA. The best trial was treatment with a mixture of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* with the addition of an aqueous solution of PABA at concentrations of 10^{-4} and 10^{-6} mol/l. It was shown that the use of *Bacillus spp.* with the addition of the para-aminobenzoic acid derivatives solutions, leads to an improvement in the functional state of plants, contributing to the activation of the active resistance mechanisms to the action of the stress factors. The results obtained demonstrate the possibility of using entomopathogenic bacteria in a tank mixture with PABA for the creation of biological preparations as alternatives to pesticides and the development of biological methods of plant protection.

Keywords: *Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki; Bacillus thuringiensis var. thuringiensis; para-aminobenzoic acid (pABA) derivaţi; produse biologice; activitate insecticidă de reglare și a creșterii.*

Introducere. Populațiile în creștere au impus utilizarea produselor ecologice, care au devenit parte integrantă a practicilor agricole și horticole, maximizând producția de culturi. Nivelul actual de protecție a plantelor nu rezolvă toate problemele producției de plante, deoarece pesticidele nu sunt capabile să protejeze plantele de stresul abiotic. Schimbările climatice și încălzirea globală sunt de mare preocupare pentru agricultură din întreaga lume și sunt printre cele mai discutate probleme în societatea actuală. La scară globală, dăunătorii și agenții patogeni necesită costuri majore de biosecuritate pentru prevenirea sau eradicarea incursiuni și pentru a se asigura că produsele exportate sunt fără dăunători și boli. Invazia insectelor dăunătoare reprezintă, de asemenea, o problemă majoră cu schimbarea climei, care poate provoca pierderi semnificative la culturi și afectează negativ agricultura globală. Diversitatea largă a speciilor și varietăților cultivate oferă un potențial major de adaptare la condițiile climatice diversificate la nivel regional/local sau de la un an agricol la altul. La un nivel înalt al eficacității ecologice și inofensivității preparatelor biologice, utilizarea lor nu are de fiecare dată un efect stabil în legătură cu influența negativă a factorilor climatici asupra plantei-gazdă (Paini et al., 2016; Skendžić, S et al., 2021).

Bacteriile entomopatogene sunt cunoscuți de mult timp ca regulatori naturali ai populației de insecte. Cele mai frecvent utilizate bacterii sunt din gen. *Bacillus* [Guliy et al., 1982; Garczynnski și Siegel, 2007], care produc o proteină cristal parasporală toxică pentru insecte. Acest lucru a condus la utilizarea pe scară largă a *B. thuringiensis* ca componentă activă a preparatelor entomopatogene prietenoase cu mediul, ca alternativă la pesticidele chimice. Utilizarea bacteriilor care suprimă creșterea și dezvoltarea dăunătorilor și bolilor este cea mai sigură, deoarece reduce impactul negativ al pesticidelor în timpul sezonului de vegetație (Tikhonovich, I.A., 2005; Pusenkova L.I., 2010).

Recent se studiază posibilitatea creșterii eficacității agenților fitosanitari prin adăugarea acestora la substanțe active cunoscute pentru efectul lor pozitiv asupra sistemelor vii. Una dintre aceste substanțe poate fi acidul *para*-aminobenzoic (pABA). PABA este implicat în sinteza ARN și ADN-ului și este de asemenea un „factor de creștere” pentru multe bacterii.

Faimosul învățat Raport I. A a stabilit că efectul pozitiv al PABA asupra sistemelor vii se bazează pe fenomenul necunoscut anterior al interacțiunii sale cu enzimele. Efectul pozitiv al acidului *para*-aminobenzoic asupra plantelor, animalelor și oamenilor a fost dovedit (Kozhevnikova N.A., 1983). Există date despre eficacitatea PABA în reducerea efectului dăunător al mutagenilor. Se știe că PABA este capabil să absoarbă razele UV, care afectează negativ mecanismul de reproducere bacteriană, prin urmare, utilizarea PABA în preparatele bacteriene destinate tratării părților aeriene ale plantelor poate fi deosebit de eficientă. Astfel, acizii benzoici, cunoscuți pentru importanța lor ca elemente de bază în elaborarea, au câștigat o atenție tot mai mare în știința plantelor, fiind implicați în diverse procese fiziologice de la reglarea germinării semințelor până la rezistența la boli și toleranța la stres (Eiges, N.S., 2015).

Scopul cercetării a fost de a stabili posibilitatea utilizării unui amestec de tulpini entomopatogene de *Bacillus thuringiensis* subsp. kurstaki și *Bacillus thuringiensis* var. thuringiensis cu derivați ai acidului *para*-aminobenzoic pentru determinarea efectului sinergic în creșterea eficienței biologice pentru a investiga rolul acestora în creșterea și dezvoltarea culturii mărului și cartofului cultivate în Republica Moldova și Uniunea Europeană în ultimii ani.

Materiale și metode. Studiile au fost realizate pe baza Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecția Plantelor al Universității de Stat a Republicii Moldova în anul 2022. Obiectele cercetării au fost suspensii de bacterii entomopatogene *Bacillus thuringiensis* subsp. kurstaki, *Bacillus thuringiensis* var. thuringiensis și derivați ai acidului para-aminobenzoic la concentrații de 10^{-2}, 10^{-4}, 10^{-6} mol/l. Suspensiile au fost folosite pentru a proteja mărul ”Renet Simirenko” de dăunătorul *Cydia pomonella* L. într-o livadă de meri și pentru a proteja soiul de cartofi ”Riviera” de gândacul de Colorado (*Leptinotarsa decemlineata* Say) într-un câmp de cartofi.

Rezultate și discuții. Din punct de vedere meteorologic, primăvara anului 2022 în Republica Moldova a fost neomogenă după regimul termic și cu precipitații. Temperatura medie a aerului pe parcursul sezonului a constituit în teritoriu +7,9..+9,9^{0}C. Temperatura maximă a aerului pe parcursul sezonului a urcat până la +29^{0}C (mai, SM Chisinău), iar cea min. a scăzut până la -9^{0}C (Figura 1, 2).

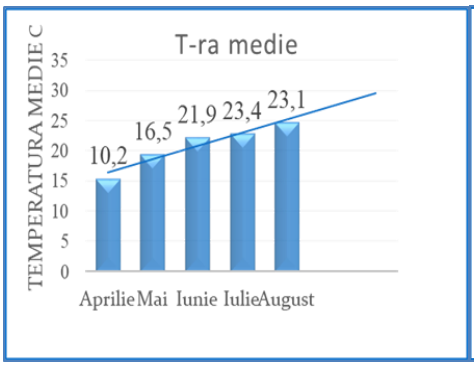


Fig.1. Temperatura medie

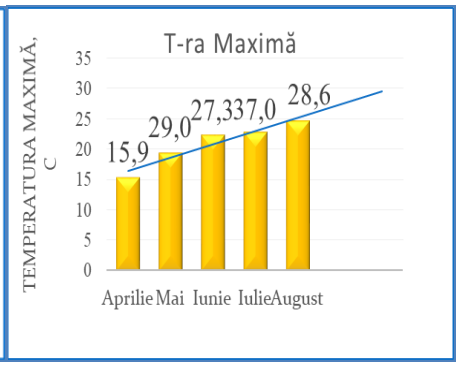


Fig. 2. Temperatura maximă

Temperatura maximă a aerului pe parcursul verii a urcat până la +37^{0}C. În anul de raportare, cea mai mare cantitate de precipitații a căzut pentru întreaga perioadă de cercetare. Acest fenomen a influențat fazele de dezvoltare ale culturii de mere și bineînțeles, dinamica dezvoltării complexului de dăunători. Eficacitatea complexului derivaților acidului *para*-aminobenzoic (PABA) și celor bacteriene depind de temperatură aerului +24+28^{0}C. La alegerea terminilor pentru stropire este necesar de luat în considerație caracteristicile lor. Moartea rapidă a larvelor este indispensabil legat de concentrația corpurilor bacteriene în corpul larvei. La temperaturi joase larvele se mișcă și se hrănesc puțin sau nu se hrănesc deloc în decurs de câteva zile. În rezultat primesc cantități mici de corpuri bacteriene. Mortalitatea larvelor în acest caz se mărește la mai multe zile și eficacitatea suspensiei este mica. Temperatura optimală a aerului pentru derivați acidului *para*-aminobenzoic (PABA) și celor bacteriene +18+30^{0}C. Tratamentul s-a efectuat la temperatura medie a aerului +23,7^{0}C.

În prima etapă a cercetării, a fost determinată compatibilitatea suspensiilor bacteriene și a derivaților PABA pentru utilizarea în amestecuri în rezervor. Experiențele au fost efectuate pe agar cu glucoză de cartofi folosind metoda discului de filtrare (Egorov N.S., 2004). Plăcile de agar au fost inoculate cu suspensii bacteriene, după care discuri filtrante impregnate cu derivați PABA la concentrații de 10^{-2}, 10^{-4}, 10^{-6} mol/l au fost plasate în centrul plăcii Petri, separat pentru fiecare bacterie.

În livadă de meri s-a efectuat tratări cu suspensia bacteriană *Bacillus thuringiensis* subsp. kurstaki și derivați de PABA în controlul larvelor viermele merelor (S. pomonella L), pulverizați manual. Experiența s-a desfășurat în 8 variante cu 3 repetări, în fiecare repetare câte 3 pomi. Opțiuni de experiență: 1). Martor 2). Standard chimic Avaunt-15 EC, 0,4 l/ha, 3). Standard biologic”

Actoverm Formula", 4). *B. thuringiensis* subsp. kurstaki + PABA 10^{-2}, 5). *B. thuringiensis* subsp. kurstaki + PABA 10^{-4}, 6) *B. thuringiensis* subsp. kurstaki + PABA 10^{-6}. 7) *B. thuringiensis* subsp. kurstaki.8) PABA 10^{-6}.

Tabelul 1. Eficacitatea biologică a suspensiei bacteriene *Bacillus thuringiensis var. kurstaki* contra viermele merelor (*Cydia pomonella L*), II generație

№	Varianta	Norna de consum, l/ha/ titrul UFC/ml	Numărul de fructe în evidență			Eficacita-tea biologică, %
			Total fructe, buc.	Total atacate, buc.	% de atac	
1.	Martor	-	300	213	71,0	-
2.	Etalon chimic Avaunt-15EC 0,4 l/ha	0,4	300	21	7,0	95,3
3.	Actoverm Formula, Etalon biologic	1×10^{9}	300	34	11,3	87,3
4.	*B. thuringiensis kurstaki* + PABA 10^{-2}	$1,5\times10^{9}$	300	48	16,0	81,3
5.	*B. thuringiensis kurstaki* + PABA 10^{-4}	$1,5\times10^{9}$	300	41	13,7	83,0
6.	*B. thuringiensis kurstaki* + PABA 10^{-6}	$1,5\times10^{9}$	300	31	10,3	84,6
7.	PABA 10^{-6}	10^{-6}	300	186	62,0	20,6
8.	*B. thuringiensis kurstaki*	$1,5\times10^{9}$	300	54	18,0	73,6
	$HCP_{0,05}$					8,4

Prin urmare, rezultatele noastre atestă că soluțiile de tratament în control numărul fructelor de mere afectate a fost de 71%. La tratarea arborilor cu o suspensie de *B. thuringiensis* subsp. kurstaki, numărul fructelor afectate a fost de 18%, iar eficacitatea biologică a fost de 73,6%. Utilizarea amestecurilor cu derivații PABA a mărit eficiența lor biologică.în protejarea fructelor de măr de viermele merelor. La utilizarea derivațiilor PABA 10^{-2} în combinație cu o suspensie bacteriană, deteriorarea fructelor a scăzut la 16%, iar eficiența a fost de 81,3%. Concentrații scăzute de PABA 10^{-4} și PABA 10^{-6} în amestecurile de

rezervor au crescut efectul protector, deteriorarea fructelor a scăzut la 13,7% și 10,3%, iar eficiența biologică a crescut la 83,0% , respectiv, 84,6%. Eficacitatea etalonului chimic a fost de 95,3%, iar cel biologic a fost de 87,3%.



Fig. 3 (a, b, c, d). Tratări cu derivații acidului para-aminobenzoic (PABA) în amestec cu suspensia bacteriana *Bacillus thuringiensis var. kurstaki* CNMN-BB-11, în livada IGFPP al USM

Ca rezultat, se poate observa că suspensiile bacteriene în amestecuri cu derivații PABA în protejarea fructelor de măr de viermele merelor (*Cydia pomonella L*) au prezentat o activitate biologică mai mare la concentrații mai mici. Cele mai bune opțiuni au fost tratamentele cu amestecuri de *B. thuringiensis* subsp. kurstaki cu adăugarea de soluții apoase de PABA la concentrații de 10^{-4} și 10^{-6} mol. În aceste variante, se poate de menționa un efect sinergic al suspensiei de *B. thuringiensis* subsp. kurstaki și concentrații scăzute de PABA 10^{-4} și 10^{-6} mol, deoarece eficiența biologică în reducerea daunelor aduse merelor crește de la 73,6% atunci când se utilizează bacterii fără derivați PABA într-un amestec de rezervor cu PABA 10^{-6} mol - la 84,6%.

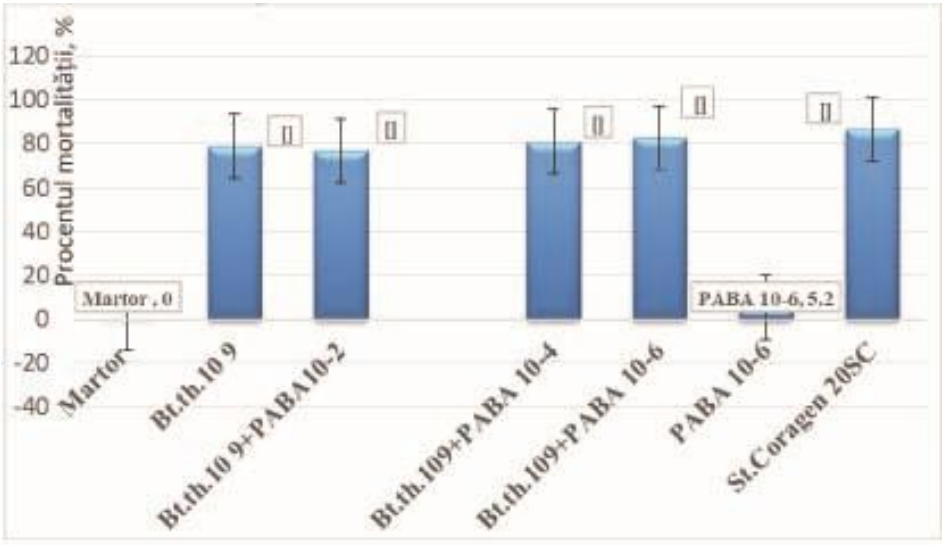


Fig. 4. Eficacitatea biologică a suspensiei entomopatogene de *Bacillus thuringiensis* var *thuringiensis* în sinergie cu derivații acidului *para*-aminobenzoic (PABA) in combaterea dăunătorului *Leptinotarsa decemlineata*, la cartof, soiul „Riviera", I generație

O suspensie bacteriană entomopatogenă de *B. thuringiensis* var. thuringiensis, titru 10^9 UFC/ml și amestecuri de rezervor cu adaos de derivați PABA. Eficacitatea biologică a suspensiei bacteriene fără derivați PABA în combaterea dăunătorilor a fost de 79,8%. Când derivații PABA 10^{-2} și 10^{-4} au fost adăugați în amestec cu bacteriile entomopatogene, eficacitatea biologică a scăzut ușor și s-a mărit de la 76,4% respectiv la 78,4%. Utilizarea unui amestec a bacteriilor entomopatogene și derivațiilor PABA 10^{-6} a crescut mortalitatea larvelor cu o eficiență de 80,9% comparativ cu martorul (Figura 4).



Fig. 5 (a, b). Aspectul privind atacul *Leptinotarsa decemlineata* la cartof, soiul "Riviera"

S-a manifestat diferențe nesemnificative între suspensia bacteriană entomopatogenă și amestecurile de derivați PABA cu 10^{-2} -76,2% și 10^{-4}-80,9% mol, care ar putea fi influențate de condițiile meteorologice ale sezonului de vegetație din 2022. Deficitul de precipitații în luna mai a fost de 21 mm, în timp ce necesarul de 54 mm (39% din normă), iar temperaturile maxime de la mijlocul lunii în intervalul 25-28^{0}C au avut un impact negativ asupra germinării și dezvoltării postemergente a cartofului. În iunie, 7 mm de precipitații au scăzut la o normă de 65 mm cu un deficit de 89% și abateri de temperatură de la norma de +1,2^{0}C).

Studiile efectuate au arătat promisiunea utilizării unui complex de tulpini bacteriene amestecate cu derivați de acid *para*-aminobenzoic pentru a elabora măsuri de protejare a cartofilor de dăunătorul *Leptinotarsa decemlineata*.

Concluzii:

Utilizarea amestecurilor în complex ale bacteriei entomopatogene *B. thuringiensis* subsp. kurstaki cu derivații ai acidului *para*-aminobenzoic, a parvenit la creșterea eficacității biologice la protecția fructelor de măr soiul „Renet Simerenko" in combaterea dăunătorului viermele merelor (*Cydia pomonella L*). Utilizarea concentrațiilor mai scăzute de PABA 10^{-4} și PABA 10^{-6} mol în amestec au crescut și efectul protector: deteriorarea fructelor a fost redusă la 13,7% și 10,3%, iar eficiența biologică a crescut la crescut la 83,0%, respectiv, 84,6%. Eficacitatea etalonului chimic a fost de 95,3%, iar cel biologic a fost de 87,3%.

Eficacitatea biologică a bacteriei entomopatogene *Bacillus thuringiensis* var thuringiensis 10^9 UFC/ml într-un amestec de rezervor cu derivați de acid para-aminobenzoic la o concentrație de 10^{-6} mol față de larvele gândacului de Colorado a fost de 80,9%.

Rezultatele obținute confirmă posibilitatea utilizării bacteriilor entomopatogene într-un amestec cu PABA pentru a crea preparate biologice care pot înlocui pesticidele și elabora metode biologice de protecție la cartof și măr.

Cercetările au fost realizate în cadrul proiectului bilateral Moldo-Belorus 22.80013.5107.3BL " Metode de aplicare complexa a derivaților acidului para-aminobenzoic si microorganismelor entomopatogene in controlul organismelor dăunătoare la culturile pomicole si legumicole" finanțat de Agenția Națională pentru Cercetare și Dezvoltare și proiectului

20.80009.7007.16: "Sinergismul dintre factorii naturali și mijloacele microbiologice, ecologic inofensive, de reglare a densității populațiilor de organisme dăunătoare pentru protecția culturilor agricole în agricultura convențională și ecologică"

Bibliografie

1. Paini, D.R., Sheppard, A.W., Cook, D.C., De Barro, P.J., Worner, S.P., & Thomas, M.B. Global threat to agriculture from invasive species. Proceedings of the National Academy of Science USA, 2016, nr. 113, p. 7575-7579.
2. Skendžić, S., Zovko, M., Živković, I.P., Lešić, V., & Lemić, D. The Impact of climate change on agricultural insect pests. Insects, 2021, vol 12, p. 440.
3. Алексеева К.Л. Биофунгициды в системе защиты овощных культур открытого грунта //Картофель и овощи. 2022. №5. С. 12-14. https://doi.org/10.25630/PAV.2022.34.66.001
4. Кожевникова Н. А. Влияние *пара*-аминобензойной кислоты на активность дезосирибонуклеазы интактного и облученного препарата / Н. А. Кожевникова, И. А. Рапопорт, Е. А. Иваницкая, И. Д. Пудрина // Доклады АН ССС Р. — 1983. — Т. 273, № 2. — С. 476–479.
5. Петровский Ф., Каракотов С. Микробиологические препараты в растениеводстве. //Защита и карантин растений, 2017, №2, С.14-18. https://doi.org/10.25630/PAV.2022.34.66.001
6. Эйгес, Н.С. Исследование действия антиоксиданта пара-аминобензойной кислоты на зерновые и другие культуры / Н.С. Эйгес, Г.А. Волченко, С.Г. Волченко // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования: матер. XI Междунар. симпоз., Пущино, 15–19 июня 2015 г. – М.: РУДН, 2015. – С. 172–176.
7. Большой практикум по микробиологии**,** М., Высшая школа. 1962, 490с.
8. Vreme si clima. disponibil http://www.pogodaiklimat.ru/archive.php. [citat 10.05.2023].