APLICAREA BACTERIILOR ENTOMOPATOGENE *BACILLUS THURINGIENSIS*, VAR.THURINGIENSIS ȘI FP-09 CONTRA *LEPTINOTARSA DECEMLINEATA* LA CULTURA CARTOFULUI

APPLICATION OF THE ENTOMOPATHOGENIC *BACTERIA BACILLUS THURINGIENSIS*, VAR. THURINGIENSIS AND FP-09 AGAINST LEPTINOTARSA DECEMLINEATA IN POTATO CROPS

CZU: 632.937:635.21 **https://doi.org/10.59295/spd2024n.23**

Pantelimon ZAVTONI,
ORCID: 0000-0003-1841-0086
e-mail: pantelimon.zavtoni@sti.md
Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor,
Universitatea de Stat din Moldova
Leonid VOLOȘCIUC,
ORCID: 0000-0001-6621-9919
Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor,
Universitatea de Stat din Moldova
Aurelia STINGACI,
ORCID: 0000-0002-7475-4310
Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor,
Universitatea de Stat din Moldova

Summary. *Data were obtained on the application of the entomopathogenic bacterium Bacillus thuringiensis in synergy with FP-09 for the control of Colorado potato beetle on the potato variety Marabel.*

The action of entomopathogenic bacteria in combination with FP-09 was determined in the control of Colorado potato beetle larvae stages I and III of the second generation Colorado potato beetle (Leptinotarsa decemlineata) under field conditions on potato crop of the variety «Marabel», where the average biological efficacy of Bacillus thuringiensis 108+ FP-09 was 75.9%.

The first and third instar larvae control action was determined with FP-09, where the biological efficacy in controlling larvae of Leptinotarsa decemlineata was on average 37.8%.

Keywords*:Entomopathogenic bacteria; Bacillus thuringiensis sp. thuringiensis; insecticid.*

INTRODUCERE

Agricultura ecologică se bazează exclusiv pe folosirea materialelor organice sau biologice degradabile, care asigură echilibrul ecologic al sistemului agricol. Agricultura ecologică reduce la maxim folosirea de produse chimice poluante, nu foloseşte plantele

modificate genetic şi astfel se asigură menţinerea unei biodiversităţi cu productivitate biologică ridicată.

Combaterea biologică se poate realiza prin folosirea diferitor specii de microorganisme entomopatogene cum ar fi bacteriile –*Bacillus thuringiensis* şi altele în combaterea dăunătorilor la diferite culturi agricole. În prezent se cunosc peste 90 specii de bacterii entomopatogene. Unele pot fi crescute şi înmulțite în condiții artificiale, din care se obțin produse bacteriene, care se aplică în combaterea unor specii de dăunători ai plantelor cultivate. Folosirea microorganismelor în combaterea biologică a dăunătorilor prezintă un interes deosebit şi probabil, într-un viitor apropiat, va fi cel mai practic mijloc de combatere în ansamblul măsurilor de tratare. Combaterea microbiologică a dăunătorilor se desfăşoară pe două căi: prin acţiunea agenţilor biologici şi prin utilizarea biopreparatelor pe bază de bacterii. Biopreparatele pot fi folosite singure sau în amestec cu doze scăzute de insecticide şi alte produse de tipul hormonilor sau a substanţelor sterilizante.

Cunoaşterea profundă a particularităţilor biologice ale dăunătorilor şi a relaţiilor lor cu organismele utile. Organismele dăunătoare posedă anumite particularităţi biologice care se manifestă printr-o adaptivitate sporită la diferite fenomene negative, inclusiv la pesticide, care deşi sunt comune tuturor organismelor, totuşi le asigură un grad ridicat de plasticitate ecologică. Doar cunoscând aceste particularităţi şi luând în consideraţie condiţiile concrete ale mediului, devine posibil controlul densităţii populaţiilor de insecte, agenţi patogeni şi buruieni [2, p.71].

Pentru producerea preparatelor biologice, patogene pentru insectele dăunătoare a culturilor agricole se folosesc microorganisme de diferite proveniențe. În asortimentul actual al preparatelor biologice un interes deosebit îl prezintă preparatele produse în baza *Bacillus thuringiensis* (Bt). Spre deosebire de pesticide ele au o acțiune specifică selectivă numai asupra insectelor dăunătoare, și au un spectru larg de acțiune, ce este deosebit de important – nu sunt dăunătoare pentru om, animale, insecte folositoare și mediul înconjurător.

La producerea preparatelor entomopatogene un loc deosebit îi revine calităţii tulpinilor de bacterii, care în condiţiile naturale asigură o reducere eficientă a densităţii populaţiilor de insecte dăunătoare [3, p. 494].

O aplicare largă au insecticidele bacteriene pe baza microorganismelor sporifere *Bacillus thuringiensis*- locuitor 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 (A.W.West și S.F.Petraș, 1985). În lucrările L.I.Burțeva și G.V.Calmâcova se demonstrează prezența bacteriilor în insecte, în așternutul animalelor și pe pășuni [4, p.89].

Experiențele de teren și de laborator pe tuberculi și plante de cartofi au fost efectuate în perioada 2017-2018. Evaluarea de siguranță a nanomaterialelor în laborator a fost efectuată în 5 doze (30 mg, 90 mg, 180 mg, 210 mg și 360 mg) în 3 repetiții. A fost relevat efectul ambiguu al NP-urilor de oxid de siliciu asupra creșterii și dezvoltării plan-

telor. S-a constatat că în a 14-a zi a experimentului după tratamentul tuberculilor, energia de germinare a unei doze (NP) de SiO_2 90 mg a arătat o creștere semnificativă a lungimii germenilor cu 21,4% și a rădăcinilor până la 6,8% în raport cu controlul [5, p.116].

MATERIALE ȘI METODE

Ca obiect de studiu a fost utilizat larvele de *Leptinotarsa decemlineata* de vârsta întâia și a doua la lotul de cartof amplasat pe baza experimentală al IGFPP al USM.

La cercetări s-au aplicat bacteriile entomopatogene de *Bacillus thuringiensis.* Pentru selectarea tulpinelor, cu acţiune antagonistă faţă de fitofagii de origine bacteriană au fost utilizate culturi de *Bacillus thuringiensis* din colecţia naţională de microorganisme nepatogene şi alte culturi izolate din larve colectate din condiţii naturale de Coleoptere. Larvele de Coleoptere infectate cu *Bacillus thuringiensis* a fost colectate din natură şi 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 au fost utilizate medii nutritive agarizate şi lichide, specifice fiecărei specii. Însămânțările microorganismelor au fost efectuate în conformitate cu metodele aplicate în practica microbiologică.

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

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

Titrul s-a calculat după formula

$$T= 25,10^4 \text{ x } A \text{ x } D,$$

A- numărul mediu de bacterii într-un pătrat mare

D- diluţii

T- titrul suspensiei bacteriene la 1 ml

Ţinând cont de faptul că moartea insectelor testate mai poate fi cauzată şi de alţi factori ce nu ţin de potenţialul de infecţie ai bacteriilor, pentru determinarea activităţii biologice a preparatelor se aplică formula Abbot, care ia în considerare şi mortalitatea larvelor în control:

Procentul mortalității larvelor s-a calculat după Abbot:

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

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

Mo- larve moarte în experiență % ;

Mc- larve moarte în martor %.

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

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Testele sau efectuat pe lotul experimental de cartof soiul „„Marabel” pe teritoriul IGFPP al USM .

Schema experienței:

1. Martor; 2. *Bacillus thuringiensis* var. thuringiensis10^8 UFC/ml; 3. *Bacillus thuringiensis* var. thuringiensis10^8 UFC/ml+ FP-09 -50 g; 4. FP- 09 - 50 g; 5. Etalon Coragen 20 SC - 0,06 l/ha. Sunbstanță activă clorantraniliprol 200 g/l

Testele s-au efectuat la larvele de vârsta întâia-a treia a dăunătorului Gândacului din Colorado *Leptinotarsa decemlineata.* Experiența s-a efectuat în 5 variante (Martor, *Bacillus thuringiensis*, FP-09, Et. Coragen cu 3 repetiții, unde s-a tratat larvele cu soluție de cultură. Condițiile climaterice ale anului curent în perioada efectuării experiențelor se caracterizează printr-o varietate destul de variată.

Indicii care caracterizează nivelul temperaturii în luna mai a crescut în comparație cu luna aprilie. În prima și a decadei a doua a lunii temperatura minimală a constituit 8,2 ^{0}C – 12,6^{0}C, cu un nivel al temperaturii maximale de la 19,5^{0}C până la 23,1^{0}C. Temperatura medie lunară a atins nivelul de 14,1^{0}C – 17,6^{0}C. În luna mai cantitatea de precipitații a constituit 21,0 mm, ceea ce constituie un nivel mai redus de cât în luna aprilie.

Astfel, 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 21,7 ^{0}C ,iar în prima decadă și în decada a trea 22,6 ^{0}C. Nivelul temperaturii maximale a constituit 27,3 ^{0}C. Luna iunie temperature medie în perioada data a variat de la 21,7^{0}C până la 22,6 ^{0}C. Cantitatea de precipitații a costituit 6,7 mm.



Fig. 1. Atacul dăunătorului la lotul experimental de cartof soi „ Marabel”

Tabelul 1. Eficacitatea biologică a suspensiei entomopatogene de *Bacillus thuringiensis* în sinergie cu FP - 09 în combaterea dăunătorului *Leptinotarsa decemlineata*, la cartof, soiul „Marabel" I generație

orcid:	**Varianta**	**Repetiții**	**Norma kg/ha**	**Până la preluc. larve / 10 plante**	**După prelucrare larve/10 plante la zi**				**Eficacitatea biologică, %**
					3	**5**	**7**	**9**	
1	Martor	I		169	171	177	186	195	0
		II		134	140	147	156	162	0
		III		92	96	101	107	111	0
		Media		**131,6**	**135.6**	**141.6**	**149.6**	**156,0**	0
2	*Bacillus thuringiensis* var. thuringiensis	I	10^8 UFC/ml	82	79	49	38	22	73,1
		II		162	154	90	73	48	70,3
		III		192	181	106	86	55	71,3
		Media		**145,3**	**138.0**	**81.6**	**62.3**	**41,6**	**71,5**
3	*Bacillus thuringiensis* var. thuringiensis + FP - 09	I	10^8 UFC/ml + 50g	123	116	67	55	29	76,4
		II		183	173	100	82	42	77,0
		III		112	106	61	50	25	77,6
		Media		**139,3**	**131.6**	**76.0**	**62.3**	**32,0**	**77,0**
4	FP - 09	I	50g.	150	147	127	112	97	35,3
		II		124	121	105	93	86	30,6
		III		169	163	143	126	114	32,5
		Media		**147,6**	**143.6**	**125.0**	**109.3**	**99,0**	**32,8**
5	Et.Coragen 20 SC	I	0,06 l/ha	186	17	13	6	7	96,2
		II		180	15	11	8	8	95,5
		III		119	11	9	7	7	94,1
		Media		**161,6**	**14.3**	**11.0**	**7.0**	**7,3**	**95,2**
	DEM								2,3

Analizând tabelul 1. Eficacitatea biologică a suspensiei entomopatogene de *Bacillus thuringiensis* în sinergie cu FP – 09 în condiții de câmp, putem menționa, că eficaci-

tatea biologică la concentrația 10^8 UFC/ml a fost de 71,5 % iar concentrația 10^8 UFC/ml cu FP - 09 -50g a fost de 32,8 % față de etalonul chimic care a avut o eficacitate de 95,2% .



Fig. 2 (a,b). Infectarea larvelor după prelucrare cu suspensie entomopatogenă de *Bacillus thuringiensis* în sinergie cu FP – 09 la lotul experimental de cartof soi „ Marabel”.

Tabelul 2. Eficacitatea biologică a suspensiei entomopatogene de *Bacillus thuringiensis* în sinergie cu FP - 09 in combaterea dăunătorului *Leptinotarsa decemlineata*, la cartof, soiul „Marabel” II generație

Nr. d/r	**Varianta**	**Repetiții**	**Norma kg/ha**	**Până la preluc. larve / 10 plante**	**După prelucrare larve/10 plante la zi**				**Eficacitatea biologică, %**
					3	**5**	**7**	**9**	
1	Martor	I		41	43	45	48	55	0
		II		32	33	36	39	49	0
		III		34	36	39	41	45	0
		Media		**35,6**	**37.3**	**40.0**	**42.6**	**49,6**	0
2	*Bacillus thuringiensis* var. thuringiensis	I	10^8 UFC/ml	17	15	9	8	5	70,5
		II		21	19	11	9	6	71,4
		III		24	21	13	10	7	70,8
		Media		**20,6**	**18.3**	**11.0**	**9.0**	**6,0**	**70,9**
3	*Bacillus thuringiensis* var. thuringiensis + FP - 09	I	10^8 UFC/ml + 50g	18	16	9	7	4	77,7
		II		19	17	10	8	5	73,6
		III		17	15	9	7	4	76,4

		Media		**18,0**	**16.0**	**9.3**	**7.3**	**4,3**	**75,9**
4	FP - 09	I	50g.	27	24	19	17	16	40,7
		II		26	23	18	18	16	38,4
		III		29	26	21	20	19	34,4
		Media		**27,3**	**24.3**	**19.3**	**18.3**	**17,0**	**37,8**
5	Et.Coragen 20 SC	I	0,06 l/ha	9	2	1	2	1	88,8
		II		12	4	3	2	2	83,3
		III		10	4	2	2	1	90,0
		Media		**10,3**	**3.3**	**2.0**	**2.0**	**1,3**	**87,3**
	DEM								4,3

Analizând tabelul 2. putem menționa, că eficacitatea biologică la concentrația 10^8 UFC/ml a fost de 70,9 % iar concentrația 10^8 UFC/ml cu FP - 09 - a fost de 75,9 % față de etalonul chimic care a constituit o eficacitate de 87.3% .

Suspesia de *Bacillus thuringiensis* var. thuringiensis în sinergie cu FP-09 are un efect intestinal, a cărui impact se manifestă în intestinele larvelor dăunătorului *Leptinotarsa decemlineata* în timpul hrănirii sale active, provocând leziuni interioare și blocarea digestiei cu Fp-09 prin absorbția sucului digestiv, în urma căreia echilibrul osmotic este perturbat și procesele de digestie sunt inhibate. Ca urmare, apare infestarea celulelor și ulterior moartea insectelor.

CONCLUZII

Utilizarea amestecurilor în complex ale bacteriei entomopatogene *B. thuringiensis* în sinergie cu FP-09 pentru combaterea Gândacului din Colorado la cultura de cartof soi ,, Marabel" are un impact pozitiv asupra dăunătorului. Acțiunea bacteriilor entomopatogene în combinație cu FP-09 în combaterea larvelor de vârsta întâia a treia a Gândacului din Colorado (*Leptinotarsa decemlineata*) a doua generație în condiții de câmp la cultura de cartof soi ,,Marabel", unde eficacitatea biologică medie la varianta *Bacillus thuringiensis var. thuringiensis* 10^8 + FP-09 a constituit de la 75,9 % . S-a determinat acțiunea în controlul larvelor de vârsta întâia a treia cu FP-09 unde eficacitate biologică în combaterea larvelor de *Leptinotarsa decemlineata* a constituit în medie de 37,8%. S-a determinat rolul bacteriilor entomopatogene în varianta *Bacillus thuringiensis* var. thuringiensis 10^8 UFC/ml unde eficacitatea biologică a fost de 70,9%, față de etalonul chimic care a avut o eficacitate de 87.3% Pe acest lot experimental a fost determinată acțiunea bacteriilor entomopatogene *Bacillus thuringiensis*, var. thuringiensis și FP-09 și stabilirea fenomenelor sinergice la reglarea densității *Leptinotarsa decemlineata* la cultura cartofului.

REFERINȚE

1. VOLOŞCIUC L. *Biotehnologia producerii şi aplicării preparatelor baculovirale în agricultura ecologică.* Chişinău *,* În: Chişinău: Bons Offices, 2009. 264 p. ISBN 978-9975-9774-5-6.
2. VOLOȘCIUC L. *Protecția integrată a plantelor și calitatea produselor agricole*. In: Akademos, nr. 3. Vol. 34. 2014, p. 71. ISSN 1857-0461
3. GRISHECHKINA S, ERMOLOVA V et. Al. *Polyfunctional properties of the Bacillus thuringiensis var. thuringiensis industrial strain 800/15*. In: *Agricultural Biology*, 2019, Vol. 54, nr. 3, p. 494-504. ISSN 2412-0324 doi: 10.15389/agrobiology.2019.3.494eng
4. КУЗНЕЦОВА Л. *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.
5. АМИНОВА Е, МУШИНСКИЙ А. *Оптимизация применения нанокремния на Solanum Tuberosum L*. In: ФГБНУ, Россия, Журнал Известия, N-5(79). Оренбург.2019 с.116-118.