

INFLUENȚA NANOPARTICULELOR DE FIER ȘI A BACTERIILOR DE NODOZITĂȚI RHIZOBIUM JAPONICUM RD₂ PE FONUL TRIFLURALINEI ASUPRA DEZVOLTĂRII PLANTULELOR DE SOIA

*Vasile Todiraș dr., Svetlana Prisacari, Angela Lungu,
Sergiu Corcimar dr., Leonid Onofraș dr., Nuvela Zuza.
Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al ASM*

ÎNTRUDUCERE

Printre culturile tehnice de bază în Republica Moldova soia ocupa un loc de frunte. Conform datelor statistice anual ocupa aproximativ 50 mii ha. Această cultură împreună cu bacteriile de nodozităţi *Rhizobium japonicum* se consideră drept un izvor de azot biologic în agricultură, ca o sursă necesară de proteine în dezvoltarea organismului uman și a îmbunătățirii calității nutrețului pentru vitărit.

Cercetătorii I.C.C.C. Selecția (mun. Bălți, Moldova) [1] au stabilit că recolta de boabe în Republică scade și nu satisface necesitățile în proteina alimentară și furajeră. Pentru sporirea recoltei și îmbunătățirea calității producției obținute este necesar de a respecta elementele tehnologiei moderne de cultivare a soiei printre care - utilizarea optimă a pesticidelor, tratarea semințelor cu biopreparate etc. Însă, utilizarea nerațională a erbicidelor în semănăturile de soia influențiază negativ asupra recoltei plantelor și microflorei, care se dezvoltă în zonele de rizoplană, rizosferă și filosferă.

Conform datelor unor cercetători plantele de soia sunt foarte sensibile la majoritatea erbicidelor utilizate [2]. Prin cercetările efectuate în menționatul I.C.C.C. „Selecția” [3] s-a constatat, că pentru a determina influența erbicidelor asupra simbiozei plantelor de soia cu bacteriile de nodozităţi în primul rând este necesar de a stabili acțiunea lor asupra plantei. Rezultatele obținute au arătat, că sub influența erbicidelor scade densitatea plantelor, în special, în dependență de soiul și fonul utilizat. Folosirea erbicidului Prometrin pe fonul infectat natural cu bacteriile de nodozităţi duce la scăderea numărului de plante la soiurile „*Bucuria*” și „*Bel'tzkaya* – 80” - cu 6-11%, a erbicidului Amiben – cu 6-12%, a Treflanului – cu 10-27% și a amestecului de Treflan și Amiben – cu 16-21%.

Unele date bibliografice [4] remarcă faptul că acțiunea fitotoxică a erbicidelor triazine asupra plantelor leguminoase este însoțită de scăderea numărului de nodozităţi pe rădăcini, micșorarea lor în volum și scăderea cantității de legoglobulină în ele.

Efectuând experiențe vegetative cu soia și utilizând treflanul în concentrația de 0,25 mg/kg cercetătorii au stabilit că acest erbicid este foarte toxic față de sistemul rizobio-bacterian, masa brută a plantelor scade - cu 60,4%, a rădăcinilor – cu 66,7%, a nodozităților – cu 63,6%, iar activitatea nitrogenazei se micșorează de 7,62 ori față de martor. În experiențe de câmp studiind acțiunea erbicidelor Treflan, Linuron și Prometrin asupra eficacității inoculării soiei cu bacteriile de nodozităţi, s-a ajuns la concluzia, că utilizarea acestor erbicide ar putea să fie un factor de micșorare a eficacității preparatelor bacteriilor de nodozităţi la semănăturile de soia [5].

Utilizarea intensivă a erbicidului Glifosat a dus la acumularea lui în sol și apă, în fructe și în ramurile plantelor agricole [6, 7].

În rezultatul unor cercetări [8] s-a stabilit că bacteriile de nodozităţi *Rhizobium japonicum* reacționează diferit la diverse concentrații a erbicidelor.

Au fost obținute date conform cărora bacteriile *Mycobacterium chlorophenolium* PCP1(DSM 43826) dezvoltându-se în solul poluat cu pentaclorfenol – colonizează rădăcinile plantelor de lucernă (*Medicago sativa* L., var Vela) [9]. Bacteriile se deplasează de la locul inoculării pe o distanță de aproximativ 20 cm. Tratarea semințelor de lucernă cu celulele micobacteriilor a stimulat creșterea plantelor în solul poluat cu substanța nominalizată. Autorii acestui studiu au demonstrat că atât bacteriile cât și plantele de lucernă pot fi unii din factorii principali pentru remedierea solului.

Tulpina *Arthrobacter* de asemenea are capacitatea de a descompune pentaclorfenolul, însă, mai puțin efectiv decât bacteriile *Mycobacterium chlorophenolium*. Au fost publicate date conform cărora eliminarea erbicidului GLIFOSAT din sol și apă ar putea fi efectuată prin intermediul microorganismelor distructoare etc. [10, 11, 12, 13, 14].

Există date conform cărora utilizarea nanoparticulelor în combinație cu biopreparatul *Bacteriorodopsin* sporește rezistența la factorii

meteorologici neprielnici recolta mărindu-se în medie de 1,5-2 ori aproape la toate culturile cerealiere și tehnice [15,16]. Au fost produse nanoagropelicule utilizarea cărora dă posibilitatea de a majora recolta de 1,5 ori accelerând totodată timpul coacerii producției agricole. [16]

Utilizarea sub formă de dispersii profunde a metalelor și a compușilor lor a dat efecte pozitive asupra dezvoltării plantelor. Drept rezultat al cercetărilor întreprinse s-a constatat că utilizarea amestecului de particule ale dioxidului de titan de dispersie înaltă în concentrații mici influențează pozitiv asupra proceselor de germinare a semințelor și creștere rapidă a soiei [17]. Acest procedeu a influențat de asemenea asupra creșterii activității nitratreductazei, măririi capacității de absorbție a apei și îngrășămintelor, stimulării sistemului antioxidant. Experimentarea oxidului de titan cu dimensiuni submicronice în dozele de la 2,5 până la 40 g/kg/sol a intensificat creșterea spanacului [18].

Au fost obținute rezultate pozitive în cazul tratării grâului cu nanoparticule de sulf. [19, 20]. În rezultat înălțimea plantelor și lungimea rădăcinilor s-au mărit cu 30-40% la începutul perioadei de vegetație, iar conținutul de gluten în boabe a crescut cu 20-30%.

S-au publicat date conform cărora tratarea semințelor de soia înainte de semănat cu preparatul ABATAR (produs obținut în baza nanotehnologiilor) stimulează formarea nodozităților, sporirea masei lor și intensificarea procesului de fixare a azotului [21]. Există însă și alte păreri. Cercetătorii din Santa-Barbara /California/ în rezultatul unui șir de experiențe cu implicarea plantelor fitotehnice au ajuns la concluzia că folosirea nanoparticulelor în cazul dat se află sub semn de întrebare și chiar ar fi necesară elaborarea metodelor de preîntâmpinare a pătrunderii acestora în spațiul ambiant și neutralizarea poluanților de acest gen prezenți [22].

Prin cercetările efectuate cu soia tot în California [23] folosind nanoparticulele de dioxid de ceziu împreună cu cele ale oxidului de zinc s-au obținut rezultate, care inițial nu au fost așteptate. În final s-a stabilit că oxidul de zinc se acumulează activ în frunze și tulpini, mai puțin în semințe. Tratarea cu dioxid de ceziu a provocat limitarea creșterii plantelor și reprimarea activității vitale a bacteriilor pe rădăcinile leguminoaselor. Ambii compuși au influențat negativ asupra acumulării de biomasă de către plante.

Reieșind din cele expuse scopul investigațiilor ce ni le-am planificat a fost de a studia influența nanoparticulelor de fier împreună cu bacteriile de nodozităţi asupra diminuării efectului negativ al erbicidului Trifluralina în solul

poluat și acțiunea lor asupra creșterii plantulelor de soia.

MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

Experiențele s-au efectuat în condiții de laborator, în cutii Petri. În calitate de obiecte de cercetare au servit bacteriile de nodozităţi *Rhizobium japonicum* RD2, nanoparticulele de fier (Fe_3O_4) /sinteza 22/, erbicidul Trifluralina. Ca plantă-gază a fost folosită soia, soiul Aura. Datele experimentale au fost prelucrate din punct de vedere matematic.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Investigațiile s-au efectuat într-o serie de experiențe în condiții de laborator. În prima serie de experiențe s-a studiat influența erbicidului Trifluralina asupra capacității germinative a semințelor și dezvoltării plantulelor de soia. Concentrațiile utilizate au fost următoarele: 1, 10 și 20 mg Trif./l apă, iar în altă experiență concentrațiile de 1, 5, 10 și 25 mg Trif./1 kg sol. Rezultatele investigațiilor sunt prezentate în tabelele 1, 2.

În rezultatul investigațiilor s-a stabilit că concentrațiile de Trifluralină folosite în ambele cazuri nu au avut impact important asupra capacității germinative a semințelor. În ceea ce privește creșterea și dezvoltarea plantulelor apoi în paralel cu creșterea dozei de erbicid lungimea rădăcinilor la soia s-a micșorat și deformat considerabil.

În paralel cu testarea influenței Trifluralinei asupra dezvoltării plantulelor și bacteriilor de nodozităţi *Rh. japonicum* s-a studiat în acest sens și influența nanoparticulelor de fier. Testarea lor pe fonul Trifluralinei (20 mg/ la 1 kg/sol) s-a efectuat în diverse concentrații (25, 50 și 75 mg/kg/sol). Rezultatele investigațiilor sunt prezentate în tab. 3.

Din datele obținute în experiența respectivă rezultă că tratarea solului cu nanoparticule de fier (sinteza 22) și a semințelor de soia cu bacterii de nodozităţi pe fonul Trifluralinei este benefică pentru dezvoltarea plantulelor. Cea mai activă în acest sens a fost varianta E₃, unde 3-fluralina s-a utilizat în concentrația de 20 mg/kg/sol, nanoparticulele de fier - 75 mg/kg/sol și *Rh. japonicum* - 10^6 cel/ml.

Am studiat de asemenea influența nanoparticulelor de fier în diverse concentrații pe Fonul Trifluralinei asupra viabilității bacteriilor de nodozităţi *Rhizobium japonicum* RD2. Experiențele s-au efectuat în 3 repetări prin metoda cutiilor Petri în condiții de laborator.

Tabelul 1. Influența diverselor doze de Trifluralină asupra dezvoltării plantulelor de soia (în cutii Petri cu filtru umectat).

Varianta	Capacitatea germinativă a semințelor		Lungimea medie a rădăcinilor	
	%	Adaos față de martor, %	cm, M ± m	Adaos față de martor, %
Martor (apă)	86,7	-	4,26 ± 0,5	-
1 mg Trif./ 1 l/apă	90,0	3,3	3,18 ± 0,6	-25,4
10 mg Trif. / 1 l/apă	91,7	5,0	2,27 ± 0,1	-46,8
20 mg Trif. / 1 l/apă	78,3	-8,4	2,58 ± 0,5	-39,5

Tabelul 2. Influența Trifluralinei în diverse concentrații asupra germinării semințelor și dezvoltării plantulelor de soia (în cutii Petri cu sol nesteril).

Varianta	Capacitatea germinativă a semințelor		Lungimea medie a rădăcinilor	
	%	Adaos față de martor, %	cm, M ± m	Adaos față de martor, %
Martor (sol nesteril)	86,7		9,0 ± 2,2	
Trif. 1 mg / 1 kg/sol	88,9	2,2	9,0 ± 2,7	-
Trif. 5 mg / 1 kg/sol	80,0	-	7,4 ± 2,7	-17,8
Trif. 10 mg / 1 kg/sol	77,8	-	5,6 ± 1,9	-37,8
Trif. 25 mg/ 1 kg/sol	86,7	-	3,5 ± 1,2	-61,2

Tabelul 3. Influența NP Fe₃O₄ și a bacteriilor de nodozităţi Rh.japonicum RD2 pe fonul Trifluralinei asupra creșterii plantulelor de soia (Exp. de laborator în cutii Petri cu sol nesteril, a.2016).

Nr. d/o	Varianta	Lungimea medie a plantei	
		cm, M ± m	Adaos față de martor, %
M	Soia +3-flur(20 mg/kg/sol	7,68 ± 0,65	
E ₁	Soia +3-flur (20 mg/kg/sol) + NPFe ⁺⁺ +25mg/kg/sol+Rh.japonicum(10 ⁶ cel/ml)	8,53 ± 0,96	11,1
E ₂	Soia +3-flur (20 mg/kg/sol) + NPFe ⁺⁺ +50 mg/kg/sol + Rh.japonicum (10 ⁶ cel/ml)	8,81 ± 0,81	14,7
E ₃	Soia +3-flur(20 mg/kg/sol) + NPFe ⁺⁺ + 75 mg/kg/sol + Rh.japonicum (10 ⁶ cel/ml)	9,22 ± 0,71	20,1

Tabelul 4. Influența nanoparticulelor de fier pe fondalul Trifluralinei asupra dezvoltării bacteriilor de nodozităţi Rhizobium japonicum

Nr. d/o	Varianta	Nr. de colonii formate, mlrd/ml, M ± m
1.	Martor 1 (mediu nutritiv)	390 ± 5,2
2.	Martor 2 (400mg/l Trif.)	204 ± 10,6
3.	400 mg/l Trif. + 25 mg /l N.P.Fe ₃ O ₄	284 ± 3,5
4.	400 mg/l Trif. + 50 mg/l N.P. Fe ₃ O ₄	390 ± 8,8
5.	400 mg/l Trif. + 100 mg/l N.P. Fe ₃ O ₄	312 ± 14,1

În una din experiențe s-au testat bacteriile de nodozităţi Rhizobium japonicum RD2 pe fonul de Trifluralină în dozele 50, 100 și 200 mg Trif./l/mediu nutritiv. S-a stabilit că viabilitatea bacteriilor de nodozităţi în doza de 200 mg/Trif/l ajunge la 66,5% față de martorul absolut. În dozele de 50 și 100 mg Trif./l viabilitatea bacteriilor a fost de 94,8% și 86,7% respectiv.

În altă experiență a fost experimentată influența nanoparticulelor de fier în concentrațiile de 25, 50 și 100 mg/l L mediu nutritiv pe fonul Trifluralinei (400 mg/L).

Rezultatele obținute sunt expuse în tabelul 4. Datele obținute au demonstrat că nanoparticulele de fier în concentrații de 25-100 mg/l de mediu nutritiv favorizează neutralizarea acțiunii negative a Trifluralinei asupra bacteriilor de nodozităţi Rhizobium japonicum RD2. Varianta în care nanoparticulele de fier au fost introduse în concentrația de 50 mg/l. mediu nutritiv după numărul de colonii depășește martorul cu Trifluralină de 1,9 ori. În concentrația de 100 mg/l titrul bacteriilor a crescut de 1,5 ori, iar în concentrația de 25 mg/l - doar de 1,3 ori.

1. Reieșind din datele obținute s-au făcut următoarele concluzii: Trifluralina folosită în dozele 5, 10, 20 și 25 mg/l influențează negativ asupra dezvoltării plantulelor de soia. Asupra capacității germinative a semințelor dozele indicate nu influențează semnificativ.

2. Influența dozelor de 50, 100 și 200 mg/l erbicid asupra creșterii bacteriilor simbiotrofe *Rhizobium japonicum* RD2. de asemenea nu a fost vizibilă.

3. Folosirea nanoparticulelor de Fe₃O₄ (50 mg/l mediu nutritiv) favorizează neutralizarea acțiunii de inhibare a dozelor înalte de Trifluralină (400 mg/l) la bacteriile de nodozități Rh. *japonicum* RD2. Titrul bacteriilor se mărește de 1,9 ori față de martorul cu trifluralină.

4. Prelucrarea solului cu nanoparticule de fier în doza de 75 mg/kg/sol și bacterizarea semințelor cu *Rhizobium japonicum* RD2 (10⁶ cel/ml) pe fonul erbicidului Trifluralina (20 mg/kg/sol) favorizează creșterea plantelor de soia - cu 20,1% față de martor (Trifluralina (20 mg/kg/sol)).

Bibliografie

1. Soia și fasolea (Indrumar). Chișinău "AKSA", 2002, p. 6
2. Tkachenko A. L., Bobrova V.I. Agrohimiia, 1981, № 1, c. 57-60.
3. Chebotari N. I., Lisovskij A.A. Vliyanie gherbitzidov na effektivnosti inoculeatzii soi. //Tr. VNII s/h microbiol., 1987, t. 57, s. 97-102.
4. Paromenskaia L. N. Fiziologhiceskie aspecty dejstviya pestitzidov na simbioticheskuyu fixatziyu atmosfernogo azota. //Byul. VNII s/h microbiol. L., 1990, № 53, s. 36-37.
5. Paromenskaia L.N. i dr. Effectivnost' simbioza soi s kluben'kovymi bakteriyami pri primenenii gherbitzidov v usloviyah Krymskoj oblasti. //Tr. VNII s/h microbiol., 1987, t. 57, s. 91-96.
6. Pline W.A., Wilcut W., Duke S.O. et al. J. Agric. Food Chem. 2002, v.50, nr.3, p.506-512.
7. Gasnier C., Dumont C., Benachour N. et al. Toxicology, 2009, v.262, nr.3, p.184-191.
8. Chebotari N. I. V sb.: Virusy i microby v jizni rasstenij. Cșn., 1981, s. 57-62.
9. Karlson V., Votila J.S. /Well performing biodegraders for soil remediation: Delivery of inoculants for in situ bioremediation using plant roots. //GIAM 10 : 10 th. Int. Conf. Glob. Impacts Appl. Microbiol. And Biotechnol., Elsinore, 6-12 Aug., 1995 – s. 1., s.a - p. 110.
10. Sviridov A. V., Shushkova T.V., Ermakova I.T. i dr. Microbnaya degradatzia gherbitzida Glifosfata. //Priklad. Biohim. i mikrobiol., 2015, t. 51, Nr 2, s. 183-190.
11. Ponomareva L.V. i dr. Bioradiatziya neftezagryaznennoj pochvy s ispol'zovaniem biopreparata «BIOSAT» i peroxida cal'tziya. //Biotehnol., 1998, Nr. 1, s. 79-84.
12. Kapotina L.N., Morsakova G.N. Biologhicheskaya destruktziya nefti i nefteproduktov zagryaznyayushix pochvu i vodu. //Biotehnol., 1998, Nr. 1, s. 85-92.
13. Nechaeva I.A., Filonov A.E., Ahmetov L.I. i dr. Stimulyatziya microbnoj distruktirii nefti v pochve putem vneseniya bacterial'noj assotziatzii i mineral'nogo udobreniya v laboratornyx i polevyx usloviyah. // Biotehnol., 2009, Nr. 1, s. 64-70.
14. Kireeva N.A., Tarasenko E.M., Onegova T.S., Bakaeva M.V. Kompleksnaya bioremediatziya neftezagryaznennyh pochv dlya snizheniya toksichnosti. //Biotehnol., 2004, Nr. 6, s. 63-70.
15. Glazko V.I., Belopuhov S.A. Nanotehnologii i nanomaterialy v sel'skom hozyajstve. RGAU – MSHA, 2008. – 220 s.
16. Fedorenko V.F. Nauchnye razrabotki po nanotehnologiyam v interesah APC. //Nanotehnika, 2008, Nr. 4, s. 59-61.
17. Lu C.M., Zhang C.Y., Wen J.Q., Wu G.R., Tao M.X. 2002. Research of the effect of nanometer materials on germination and growth enhancement of Glycine max and its mechanism. //Soybean Sci., 2002, 21, 168-172.
18. Tripathi S., Sonkar S.K., Sarkar S. Growth stimulation of gram (Cicer arietinum) plant by water soluble carbon nanotubes. Nanoscale, 2011, 3, 1176.
19. Massalimov I. A. i dr. Biologhicheskaya aktivnost' nanodispersnoj sery na rannix stadiyah razvitiya psenitzы. //Nanotehnika, 2010, Nr 1(21), s. 66-68.
20. Massalimov I. A. i dr. Primenenie nanorazmernyh chastitz sery dlya obrabotki psenitzы. //Nanotexnologii – proizvodstvu. 2008: Tr. Mezhdunarod. Nauch. prakt. konf. Freazino, 25-27. XI. 2008. M., 2009, s. 385-387.
21. Zabolotnaya V.P., Koti S. Ea., Mamenko P.N. Vliyanie microudobreniya ABATAR 1 na formirovanie simbioticheskogo apparata i azotfiksiruyushchuyu aktivnost' soi. XXIX mezhd. Nauch. praktich. konf. «Innovatzii v nauke» (Rossia, g. Novosibirsk, 29 yanv., 2014).
22. Sel'scoe hozyajstvo. 22.08.12, 15:15, Msk. Internet///
23. Neira E. Nanochastitzы vxodeat v nash ratzion cherez soyu. // Po materialam Le Figaro. h., ESRF, eu 10 mar. 2013.

Recomandat spre publicare: 18.01.2017.