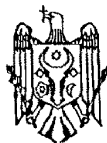




MD 1658 Z 2023.08.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1658** (13) **Z**
(51) Int.Cl: *A01C 1/06* (2006.01)
A01N 63/22 (2020.01)
A01N 63/00 (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)
C12R 1/085 (2006.01)
A01P 5/00 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ**

(21) Nr. depozit: s 2021 0085 (22) Data depozit: 2021.10.06	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2023.01.31, BOPI nr. 1/2023
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE ZOOLOGIE AL MEC, MD (72) Inventatori: MELNIC Maria, MD; ERHAN Dumitru, MD; GLIGA Olesea, MD; RUSU Ștefan, MD; BALAN Ludmila, MD; SLANINA Valerina, MD; ONOFRAȘ Leonid, MD; TODIRAȘ Vasile, MD (73) Titular: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

(54) **Procedeu de tratare a cartofului semincer contra nematodului *Ditylenchus destructor***

(57) **Rezumat:**

1
Invenția se referă la parazitologie, în special la un procedeu de combatere biologică a nematodului *Ditylenchus destructor* la cartoful semincer și poate fi utilizată în agricultură.

Procedeu de tratare a cartofului semincer contra nematodului *Ditylenchus*

2
destructor include înmuierea cartofului înainte de sădire într-o soluție ce conține lichid cultural al tulpinii de bacterii *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07 și apă, luate în raport de 1:400, în decurs de 16 ore.

Revendicări: 1

Figuri: 6

MD 1658 Z 2023.08.31

(54) Method for treating seed potatoes against the nematode *Ditylenchus destructor*

(57) Abstract:

1
The invention relates to parasitology, in particular to a method for biological control of seed potato nematode *Ditylenchus destructor* and can be used in agriculture.

The method for treating seed potatoes against the nematode *Ditylenchus destructor* comprises soaking potato seeds before planting

2
in a solution containing a culture liquid of bacterial strain *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07 and water, taken in a ratio of 1:400, for 16 hours.

Claims: 1

Fig.: 6

(54) Способ обработки семенного картофеля против нематоды *Ditylenchus destructor*

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к паразитологии, в частности к способу биологической борьбы с нематодой семенного картофеля *Ditylenchus destructor* и может быть использовано в сельском хозяйстве.

Способ обработки семенного картофеля против нематоды *Ditylenchus*

2
destructor включает замачивание семян картофеля перед посадкой в растворе, содержащем культуральную жидкость штамма бактерий *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07 и воду, взятых в соотношении 1:400, в течение 16 часов.

П. формулы: 1

Фиг.: 6

Descriere:

Invenția se referă la parazitologie, în special la un procedeu de combatere biologică a nematodului fitoparazit *Ditylenchus destructor* la cartofi seminceri, și poate fi utilizat în agricultură.

Este cunoscut faptul că una dintre bolile cartofilor, mai nocivă și cu un impact economic major, este ditlenhoza tuberculilor – boală cauzată de nematodul *Ditylenchus destructor* Thorne, 1945, care se enumără printre cei mai periculoși paraziți, exclusiv al tuberculilor. *D. destructor* parazitează mai mult de 90 de specii de plante superioare, însă principala gazdă sunt tuberculii de cartof *Solanum tuberosum*. Pe o scară de 1:5, privind potențialul dăunător, acesta a fost încadrat la valoarea 5, fiind considerată o specie cu capacitate de dăunare foarte mare, în special în perioada de păstrare. Principala sursă de răspândire a parazitului este materialul semincer infestat în fazele 1-2 de ditlenhoză (când simptomele de boală nu sunt clar vizibile), destinat plantării primăvara.

Este cunoscut procedeu de tratare a materialului semincer de cartof contra nematodului *Ditylenchus destructor*, în care sunt utilizate următoarele preparate de origine chimică: Carbofuran 5%, Furadan 5%, Heterofos 0,05%, Carbation 0,5% [1].

Neajunsul acestor preparate constă în aceea că acestea sunt de origine chimică și foarte toxice. Utilizarea lor provoacă riscuri de poluare a apei, solului și faunei, ceea ce afectează grav sănătatea omului și animalelor. Reieșind din cele expuse, autorii recomandă ca preparatele chimice să fie utilizate doar în cazul focarelor de fitohelmintoze, depistate la cultura cartofului. Actualmente, folosirea produselor nematocide de origine chimică a fost radical redusă în majoritatea țărilor. Pentru combaterea nematozilor culturilor agricole, printre care *Ditylenchus destructor*, sunt căutate alternative mai puțin toxice.

Mai sunt cunoscute procedee de tratare a cartofului semincer infestat, înainte de plantare în special, prin procedee cu utilizarea biopreparatelor pe bază de microorganisme saprofite antagoniste. Acestea nu exercită simptome de toxicitate asupra dezvoltării plantelor, dimpotrivă stimulează mecanismele de protecție și rezistență către diverși agenți patogeni, iar în final contribuie la sporirea recoltelor. Așadar, aplicarea produselor de protecție a plantelor pe bază de microorganisme saprofite antagoniste contra nematodelor este o soluție reală și de perspectivă de rezolvare a problemei în cauză. Astfel, pentru tratarea cartofului semincer contra nematodului *Ditylenchus destructor* se recomandă înmuierea cartofului înainte de sădire într-o soluție ce conține lichid de cultură al tulpini de bacterii *Pseudomonas fluorescens* CNM-PFB-01 cu un titru de 10^9 cel./ml și apă, luate în raport de 1:(100-500) respectiv, în decurs de 20 de ore [2].

Dezavantajul acestui procedeu constă în nivelul scăzut de creștere a productivității plantelor.

În calitate de cea mai apropiată soluție pentru tratarea cartofului semincer contra nematodului *Ditylenchus destructor* este procedeu de înmuiere a cartofului înainte de sădire într-o soluție ce conține lichid de cultură al tulpinii de bacterii *Rhizobium japonicum* CNMN- RB-06 cu titrul de 10^9 cel./ml și apă, luate în raport de 1:200 respectiv, în decurs de 72 ore [3].

Dezavantajul acestui procedeu constă în nivelul scăzut de creștere a productivității plantelor.

Actualmente, în majoritatea țărilor dezvoltate (SUA, India, Germania, Franța, Marea Britanie, Brazilia, Federația Rusă etc.), pentru combaterea speciilor parazite de nematozi sunt elaborate și utilizate biopreparate nematocide pe bază de fungi prădători și bacterii parazite din genurile *Arthrobotrys*, *Catenaria*, *Paecilomyces*, *Pasteuria*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bacillus* etc. În sursele literare nu este descrisă acțiunea nematocidă a speciei de bacterii saprofite *Bacillus cereus* asupra nematodului tuberculilor de cartofi *Ditylenchus destructor*. Însă, conform standardelor internaționale, cartoful semincer trebuie să fie liber de speciile parazite de nematozi nocivi pentru această cultură, printre care *Meloidogyne chitwoodi*, *Meloidogyne fallax* și *Ditylenchus destructor* (standardul pentru cartofii de sămânță EAK OOH S-1).

Problema pe care o soluționează prezenta invenție este combaterea eficientă a nematodului *Ditylenchus destructor*, prezent la cartoful semincer, cu utilizarea unui biopreparat, care manifestă suplimentar acțiune stimulatorie asupra dezvoltării și productivității acestora.

Speciile de bacterii aerobe, formatoare de spori din genul *Bacillus*, se includ în grupa microorganismelor de mare perspectivă în biotehnologia actuală, ca producătoare ale substanțelor biologice active.

Esența invenției constă în faptul, că se propune un procedeu de tratare a cartofului semincer contra nematodului *Ditylenchus destructor*, care include înmuierea cartofului semincer infestat înainte de plantare într-o soluție ce conține lichid cultural (LC) al tulpinii de bacterii *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07 și apă, luate în raport de 1:400, în decurs de 16 ore. Lichidul cultural se obține prin cultivarea bacteriilor pe un mediu agarizat până la titrul de 10^9 cel./ml și centrifugare.

Rezultatul tehnic al invenției constă în combaterea nematodului fitoparazit al tuberculilor *Ditylenchus destructor* în proporție de 99%, și suplimentar stimularea încolțirii cartofului semincer, sporirea creșterii, dezvoltării și productivității plantelor.

5 Conform surselor bibliografice, tulpina *Bacillus cereus* var. *fluorescens* posedă capacitatea de a reduce bolile provocate de diverși agenți patogeni ai plantelor - fungi, bacterii, viruși, determinând paralel, acțiune stimulatorie asupra dezvoltării plantelor prin capacitatea sa de a produce substanțe de tipul auxinelor, citochininelor, giberelinelor.

10 Bacteriile *Bacillus cereus* sintetizează un pigment galben-verzui și substanțe antibiotice de natură polipeptidică, care manifestă proprietăți antimicrobiene pronunțate asupra speciilor de fungi fitopatogeni, printre care din genul *Fusarium* - *F. oxysporum*, *F. solani*, care provoacă diferite boli grave tuberculilor de cartofi.

15 Tulpina de bacterii *Bacillus cereus* var. *fluorescens* a fost izolată din solul de ciornoziom carbonatic gras, mediu lutos, humus 3,5, în Republica Moldova, de către cercetătorul științific Valerina Slanina din cadrul Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al MEC în perioada anului 2005, și este depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Nematogene (CNMN) al aceluiași Institut.

20 Pentru cultivarea și multiplicarea tulpinii *Bacillus cereus* var. *fluorescens* sunt utilizate mediile cu agar de cartofi, cât și mediile Petrenco cu următoarea componență: peptonă-15,0%; glicerină-2,0%; MgCl₂-0,7%; K₂SO₄-2,0%; agar-2,0% și 1 litru de apă distilată (pH = 7,0-7,2). Cultivarea se realizează în termostat la temperatura de +28°-+30° C, timp de 24-48 ore. Apoi prin centrifugare este obținut Lichidul cultural (LC) sau supernatantul.

Lichidul cultural al tulpinii de bacterii *Bacillus cereus* var. *fluorescens* obținut a fost utilizat la testarea contactului direct (*in vitro*) cu nematodul *D. destructor*.

Obținerea rezultatului menționat a fost posibilă datorită utilizării lichidului cultural al tulpinii de bacterii *Bacillus cereus* var. *fluorescens*.

25 Rezultatul invenției este ilustrat în figurile 1- 6, care reprezintă:

- fig. 1, eficacitatea letală (%) a LC al tulpinii de bacterii *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07, luat în diferite concentrații, la diferite intervale de timp, în contact cu *D. destructor*;

- fig. 2, acțiunea distructivă a LC al tulpinii de bacterii *Bacillus cereus* asupra nematozilor *Ditylenchus*: a - înainte de contact; b, c, d, e - la diferite intervale de timp;

30 - fig. 3, a - cartofi seminceri inoculați cu *D. destructor*; b - după incubare, înainte de plantare;

- fig. 4, cartofi experimentali: a - în proces de plantare; b - fenofaza înflorire-maturizare;

- fig. 5, recoltele cartofilor experimentali (tuberculi/parcelă), obținute din: a- parcela Variantei V2 - cartofi seminceri inoculați, tratați înainte de plantare cu LC al tulpinii de bacterii *Bacillus cereus* (1:400), la un interval de timp de 16 ore; b- parcela Martorului M1- inoculați cu *D. destructor*, nontratați;

35 - fig. 6, cartofi experimentali Roko, recoltă, tuberculi/cuib: a - materialul semincer inoculat, prelucrat cu LC al tulpinii de bacterii *Bacillus cereus* - V2; b - martorul M1, materialul semincer inoculat, nontratat (original).

40 Analizele de laborator au fost efectuate la 14 soiuri de tuberculi de cartofi seminceri colectați din depozite în perioada de toamnă-iarnă-primăvară din diverse gospodării ale zonelor de Nord, Centru și Sud ale Republicii Moldova. Rezultatul investigațiilor contra fitohelmintozelor la soiurile de cartofi seminceri au demonstrat că sunt infestate de *D. destructor* în proporții variate. Prezența parazitului a fost depistată în majoritatea cazurilor la cartoful semincer din gospodăriile individuale (60% din totalul gospodăriilor cercetate).

45 Pentru aprecierea gradului de atac al nematodului *Ditylenchus destructor* a fost utilizată scara de 5 grade (după Ivaniuc, Iliășenco, 2010): gradul I – soiuri de cartofi rezistente la invazie (0-1,0%); gradul II - soiuri slab infestate (1,0-10,0%); gradul III – moderat infestate (11,0-25,0%); gradul IV – serios infestate (26,0-50%); gradul V – puternic infestate, atacate mai mult de 50%.

Conform acestei scări, cartofii cercetați au o infestare de 11-30%, în dependență de zonă și corespund soiurilor moderat afectate.

50 Cercetările au fost axate pe unul dintre soiurile cultivate pe larg în Republica Moldova - Roko. Conform Catalogului Soiurilor de Plante cultivate în Republica Moldova (2016), elaborat de Ministerul Agriculturii și Industriei Alimentare, soiul Roko a fost înregistrat în anul 2011, iar ulterior reînregistrat. De asemenea, cartoful Roko este inclus în Catalogul Comun al Soiurilor de Plante Agricole, elaborat de Uniunea Europeană (2019). Cartoful alimentar de soiul Roko posedă aspect calitativ ca marfă, indicele calității fiind de 95%, este preferat de cumpărători datorită gustului. Cantitatea de amidon constituie 12-16%, fiind apreciați ca cartofi alimentari, iar recolta poate atinge la 600 q/ha.

55 Este cunoscut faptul că principala sursă de răspândire a nematodului *Ditylenchus destructor* la cultivarea cartofului sunt tuberculii infestați, care se plantează primăvara ca material semincer. O altă

sursă de infestare a cartofului o constituie solul, unde nematozii pot rămâne activi pe o perioadă de aproximativ 3-4 ani.

Conform celor 5 faze de dezvoltare a ditielenhozei, evaluate în cercetările precedente efectuate la soiul Roko, s-a observat, că cei mai periculoși sunt cartofii de sămânță în primele faze (1, 2), deoarece simptomele exterioare, care apar pe tuberculi în aceste faze, încă nu sunt vizibile nici la o examinare minuțioasă, de aceea asemenea cartofi, din neatenție ar putea fi plantați.

În faza a 2-a simptomele de deteriorare la suprafața tuberculilor sunt observate doar la înlăturarea cojii. Conform recalculelor efectuate, în asemenea porțiuni are loc popularea monotipică primară a țesutului vegetal (doar cu populația speciei parazite de nematozi- *Ditylenchus destructor*), cele mai numeroase (50% din totalul de unități/gram) fiind formele juvenile ale nematodului (J_2, J_3, J_4) cu dominanța J_2 ($n=10,1 \times 10^3$ indivizi/gram țesut infestat). Numărul excesiv de larve, ce se hrănesc intens cu țesutul sănătos al pulpei cartofului, în decursul a 18-20 de zile ajunge la stadiul matur. O singură femelă depune circa 200-250 de ouă. În condițiile republicii, nematodul *D. destructor* formează 4-5 generații, iar reproducerea intensă a parazitului provoacă majorarea densității indivizilor și, în consecință, reducerea recoltei.

Exemple de realizare a invenției

Deoarece nu dispunem de informații despre capacitatea nematocidă a tulpinii de bacterii cercetate *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07 în contact cu nematozii fitoparaziți ai tuberculilor de cartofi *D. destructor*, precum și despre acțiunea acesteia asupra creșterii și dezvoltării plantelor de cartofi, a fost necesar de efectuat testarea *Bacillus cereus* în două direcții, conform exemplelor nr. 1 și nr. 2.

Exemplul 1- Testarea contactului direct (*in vitro*) a LC al tulpinii de bacterii *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07, cu nematodul fitoparazit al tuberculilor de cartofi - *Ditylenchus destructor*.

Exemplul 2 - Testarea (*in vivo*) a LC al tulpinii de bacterii *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07, în cazul contactului cu cartofii seminceri de soiul Roko, infestați cu nematodul tuberculilor de cartofi *Ditylenchus destructor*.

Exemplul 1

Testarea a avut loc în condiții de laborator prin metoda de contact direct (Kurt, 1973) al LC al tulpinii de bacterii *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07 (6×10^9 cel./ml), cu nematodul fitoparazit al tuberculilor de cartofi *Ditylenchus destructor*. Contactul a avut loc în cutiile Petri cu diametrul de 5 cm (fiecare variantă fiind luată în 3 reprize) unde în fiecare cutie s-au adăugat, cu acul entomologic steril, câte 50 de indivizi maturi (femele + masculi) de *D. destructor*. Apoi în cutiile Petri, peste nematozii selectați, s-a adăugat LC al tulpinii de bacterii *Bacillus cereus*. Testarea a avut loc în 4 variante – V1, V2, V3, V4 și un martor – M, în raportul următor (fig.1):

1. V1 - *D. destructor* + LC al tulpinii *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07, nediluat;
2. V2 - *D. destructor* + LC al tulpinii *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07, în diluție de 1:50 ;

3. V3 - *D. destructor* + LC al tulpinii *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07, în diluție de 1:100 ;

4. V4 - *D. destructor* + LC al tulpinii *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07, în diluție de 1:200 ;

5. M - *D. destructor* + apă distilată (martorul).

Experiențele au avut loc la temperatura cuprinsă între 25-27°C, la diverse intervale de timp: 18, 24, 48 ore și 5-7-14 zile. În calitate de martor (M) au fost luați nematozii *D. destructor* în contact cu apă distilată.

Conform rezultatelor obținute, testarea *in vitro* a demonstrat eficacitate nematocidă sporită, în varianta V1 (LC, luat în concentrație inițială) (fig. 1).

Rezultatele experiențelor au demonstrat, că are loc o reacție momentană a nematozilor, care capătă formă de spirală, chiar în primele 20-60 minute de contact. Eficacitatea letală a LC *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07 în concentrație inițială (V1) a constituit 98,5-100% la o expunere de 24 ore. LC al tulpinii testate fiind diluat în proporții de 1:50 (V2); 1:100 (V3) și 1:200 (V4), de asemenea, posedă activitate nematocidă. Astfel, la o expunere de 48 de ore efectul letal a constituit: 50%; 40% și 27,3%, respectiv (fig. 1).

Modul de acțiune asupra nematodului: distrugerea completă a organelor interne, deformarea corpului (fig. 2: b; c; d; e). În majoritatea cazurilor, la femele, simptomele pronunțate de contact apar în porțiunile unde este situat orificiul vulvar al acestora, precum și gonada cu ouă din interiorul corpului. A fost evidențiat faptul că masa omogenă descompusă a organelor interne, formată în rezultatul contactului cu bacteriile, este eliminată în afara corpului prin rupturile cuticulei. Paralel s-a observat eliminarea unei substanțe gazoase. Este cunoscut faptul că speciile de bacterii antagoniste aerobe din genul *Bacillus*

produc un șir de enzime: transferaze, hidrolaze, lipaze, care dezagreghează amidonul, pectina, celuloza, grăsimile, proteinele. Din figura 2 (c, d, e) rezultă că bacteriile studiate, în contact cu nematodul *D. destructor* exercită o acțiune a enzimelor produse de aceste bacterii, datorită cărora organele interne ale nematozilor sunt supuse proceselor de hidroliză.

5 Conform rezultatelor obținute menționăm, că lichidul de cultură al bacteriei *Bacillus cereus* în diverse concentrații (nediluat și în diluții de 1:50; 1:100; 1:200), la o expunere de 24-48 de ore de contact direct cu nematozii *D. destructor*, exercită eficacitate sporită, mortalitatea fiind de 98-50-40 și 27,3%, respectiv. Menționăm faptul că bacteriile *Bacillus cereus* posedă paralel activitate sporită asupra speciilor de fungi patogeni pentru cultura cartofului din genul *Fusarium*. Însă, pentru testare *in vivo*, în scopul evitării acțiunii fitotoxice asupra dezvoltării plantelor de cartof în perioada de vegetație, se recomandă de a utiliza acest preparat în diluții mai mari.

Exemplul 2

15 Testarea (în condiții *in vivo*) a capacității nematocide a LC al bacteriilor *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07, în cazul contactului cu cartofii seminceri de soi Roko, inoculați cu nematodul tuberculilor de cartofi *Ditylenchus destructor*. În experiențe de câmp (anii 2015-2019) a fost testat contactul LC al bacteriilor *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07 cu cartofii seminceri inoculați cu nematodul tuberculilor de cartofi *Ditylenchus destructor*, faza a 2-a de ditilenhoză.

20 În experiențe, în calitate de material semincer, au fost selectați tuberculi de cartofi de soiul Roko sănătoși, care au fost calibrați, greutatea medie a unui tubercul selectat a variat între 50,5-55,2 grame, iar diametrul între 5,0-6,73x3,8-5,1 cm. Tuberculii de cartofi de soiul Roko infestați în faza a 2-a de ditilenhoză, din experiment, au fost obținuți prin inocularea preventivă a fiecărui tubercul, cu un anumit număr de indivizi *D. destructor* (15 femele+15 masculi/tubercul). Tuberculii experimentali au fost expuși incubării pe o perioadă de 35-40 de zile.

25 Scopul incubării: în acest timp nematozii *D. destructor* au pătruns în țesutul vegetal al pulpei tuberculilor inoculați, unde a avut loc ciclul evolutiv al nematozilor, paralel toți cartofii au încolțit (mărimea colților fiind de 0,8-1,2 mm) (fig. 3 a,b). Rezultatele inoculării cu nematodul *D. destructor* au arătat că extensivitatea invaziei acestora constituie 100%, iar intensivitatea - 200-280 indivizi/tubercul, ceea ce corespunde fazei a 2-a de ditilenhoză, când în tuberculi are loc popularea primară monotopică doar cu specia *D. destructor*.

30 În cercetările precedente multianuale, efectuate în experiențe vegetative, s-a constatat, că LC al tulpinii de bacterii *Bacillus cereus*, utilizat la tratarea cartofilor seminceri infestați, fiind luat în concentrații mai mari - Varianta V1 - nediluat și variantele V2, V3 - diluat în proporții mici, de 1:50, 1:100, corespunzător, provoacă o eficacitate letală înaltă a nematozilor *D. destructor*, diminuând infestarea recoltelor obținute din cartofii tratați până la 0%, însă, paralel, exercită acțiune fitotoxică asupra dezvoltării tuberculilor, precum și asupra recoltelor.

35 În experiențele de față, o parte dintre tuberculii infestați la 100% în faza a 2-a de ditilenhoză au fost supuși tratamentului prin înmuiere în LC al tulpinii *Bacillus cereus*, luat în diluții mai mari - lotul variantelor V1 (1:200) și V2 (1:400), iar o altă parte de cartofii infestați nu au fost tratați, formând astfel lotul martor M1. Pe lotul martorului M2 au fost sădiți cartofi sănătoși fără prelucrare.

40 Schema testării (în condiții *in vivo*) a contactului cartofilor seminceri de soiul Roko (inoculați cu *D. destructor*) cu LC al tulpinii de bacterii *Bacillus cereus* var. *fluorescens*, înainte de plantare a avut loc în raportul următor:

1. V1 - cartofi inoculați + LC al bacteriilor *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07, în diluție de 1:200, timpul expunerii - 16 ore;
- 45 2. V2 - cartofi inoculați + LC al bacteriilor *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07, în diluție de 1:400, timpul expunerii - 16 ore;
3. M1 - cartofi infestați, netratați;
4. M2 - cartofi sănătoși, liberi de nematode, netratați.

50 LC al culturii *Bacillus cereus* a fost diluat cu apă luat în raport de 1:200 și 1:400. Tratarea s-a efectuat la temperatura camerei (15-20°C), prin metoda de înmuiere, la o expunere de 16 ore (tab.1).

Cartofii experimentali au fost plantați în câmp deschis, în sol liber de nematodul *D. destructor*. Pe toată perioada de vegetație s-au efectuat cercetări privind dezvoltarea plantelor, scopul final fiind evaluarea eficacității de sporire/activare a diverselor raporturi de diluții ale LC *Bacillus cereus* asupra plantelor.

55 Datele obținute (tab. 1) denotă că LC al tulpinii de bacterii *Bacillus cereus* în diferite concentrații exercită diverse acțiuni asupra dezvoltării și productivității tuberculilor. În loturile V1 (1:200) preparatul este puțin toxic, iar plantele s-au dezvoltat mai slab, având un număr de lăstari mediu, o înălțime medie, precum și un diametru al acestora mai mic comparativ cu loturile V2 (1:400), unde cartofii au fost tratați cu LC *Bacillus cereus* în concentrație mai mică.

De asemenea, LC al bacteriilor *Bacillus cereus* diluat în proporții de 1:400 în lotul variantei V2, posedă o eficacitate biologică majoră împotriva agenților patogeni ai cartofului, manifestând o înaltă capacitate nematocidă. În acest lot s-a evidențiat o sporire a dezvoltării plantelor, comparativ cu cele din alte loturi experimentale (V1, M1, M2).

5 Bacteriile din genul *Bacillus* sunt capabile de a sintetiza auxine și gibereline, care stimulează dezvoltarea plantelor și participă la sporirea imunității acestora la diferiți patogeni. Din datele expuse în tabel observăm că plantele variantei V2 au o înălțime medie cu aproximativ 12 cm mai mare și un număr de lăstari/plantă de 2 ori mai mare, în raport cu plantele martorului M1.

Tabel

10 Evaluarea eficacității tratării cartofilor seminceri experimental infestați cu LC al bacteriilor *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07

	Var.	Diluția/ timpul expunerii, ore	Faza înflorire - maturizare		R e c o l t a r e						
			n. lăs- tari lor	înăl- țimea plant., cm	n. tu- ber- culi/ cuib	d. mediu /tuber- cul, cm	m. tuber- culi, gr	m. tuber- culi/ cuib, gr	<i>D.</i> <i>destru-</i> <i>ctor</i> , %	Putre- gaiuri, %	Coro- pișni- țe, %
1.	V1	1:200/ 16 ore	2,3	47,0	5,0	3,23/ 4,46	43,4	217,0	0	0	0
2.	V2	1:400/ 16 ore	6,0	67,38	9,6	5,3/ 4,51	65,3	626,8	1 - 4	0	10,4
3.	M1	inoculat, netratat	3,5	55,6	7,0	3,72/ 4,63	48,4	377,52	40,42	22,5	40,3
4.	M2	sănătos, netratat	4,4	62,36	8,7	5,0/3,8	58,3	508,2	0	7,9	12,3

15 La recoltare numărul tuberculilor/cuib, precum și greutatea tuberculilor/cuib a fost în mediu de 1,4 ori mai mare pe lotul experimental V2 (1:400), în raport cu lotul martor M1 (infestat, netratat) (Tabelul 1). Extensivitatea invaziei cu *D. destructor* la cartofii recoltați de pe lotul experimental V2, tratați cu LC *Bacillus cereus* a diminuat de la 100%, înainte de plantare, până la 1-4%, la recoltare, pe când de pe lotul M1, aceasta a fost cu mult mai mare, atingând cota de 40,42%. Metoda de tratare cu LC *Bacillus cereus* (V2) a condus paralel la o reducere semnificativă (0%) a manifestării putregaiurilor atât la recoltare, cât și în timpul depozitării cartofilor, de asemenea, a redus cu mult (până la 10,4%) atacul de coropișnițe. Menționăm faptul că recolta M1, în raport cu recolta V2, este foarte atacată de putregaiuri (22,5%), precum și de coropișnițe (40,3%). Din datele tabelului 1 se observă că 7,9% din recolta obținută de pe lotul M2 (cartofi sănătoși, netratați) este atacată de diferite infecții bacteriene și fungice, iar 12,3% din tuberculii obținuți sunt traumați de coropișnițe.

25 Luând în calcul atât datele obținute de noi, cât și rezultatele cercetărilor efectuate, observăm că LC al tulpinii de bacterii *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07 manifestă suplimentar un șir de capacități: stimulează încolțirea cartofilor seminceri, sporește creșterea, dezvoltarea și productivitatea cartofilor. Tulpina cercetată exercită atât activitate nematocidă, cât și bactericidă și fungicidă, fiind și stimulator a dezvoltării plantelor, ceea ce este de perspectivă și de importanță majoră în controlul dezvoltării fitohelmintozelor. Conform datelor obținute de noi, precum și celor expuse în sursele bibliografice, tulpina *Bacillus cereus* var. *fluorescens*, posedă capacitatea de a reduce bolile provocate de fungii fitopatogeni din genul *Fusarium* (*F.oxysporum*, *F.solani*), care provoacă diferite boli cu o răspândire majoră la cultura *Solanum tuberosum*. Paralel această tulpină exercită acțiune stimulatorie asupra dezvoltării plantelor și sporirii recoltelor, prin capacitatea sa de a produce auxine, citochinine, gibereline.

35 Procedul dat reprezintă o metodă biologică eficientă în combaterea nematozilor fitoparașiți cu un impact stimulator înalt asupra culturilor agricole.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Чуканцева Н.К. Рекомендации по защите картофеля от стеблевой нематоды в Центральном Черноземном Районе. Воронеж, ВНИИЗР, 1980, 15 р.
2. MD 719 Y 2014.01.31
3. MD 1297 F1 1999.08.31

(57) Revendicări:

Procedeu de tratare a cartofului semincer contra nematodului *Ditylenchus destructor*, care include înmuierea cartofului semincer înainte de sădire într-o soluție ce conține lichid cultural al tulpinii de bacterii *Bacillus cereus* var. *fluorescens* CNMN-BB-07 și apă, luate în raport de 1:400, în decurs de 16 ore, totodată lichidul cultural se obține prin cultivarea bacteriilor pe un mediu agarizat până la titrul de 10^9 cel./ml și centrifugare.

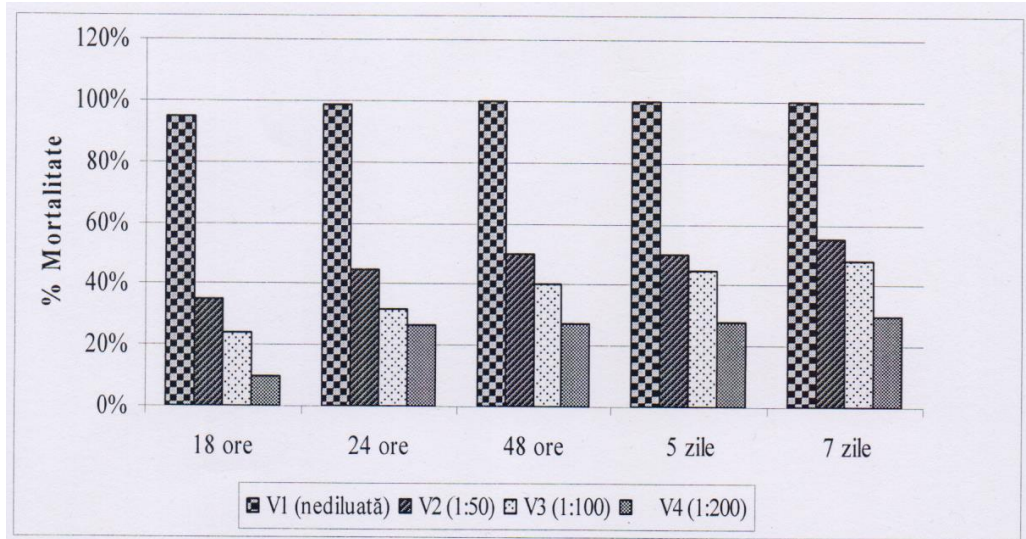


Fig. 1

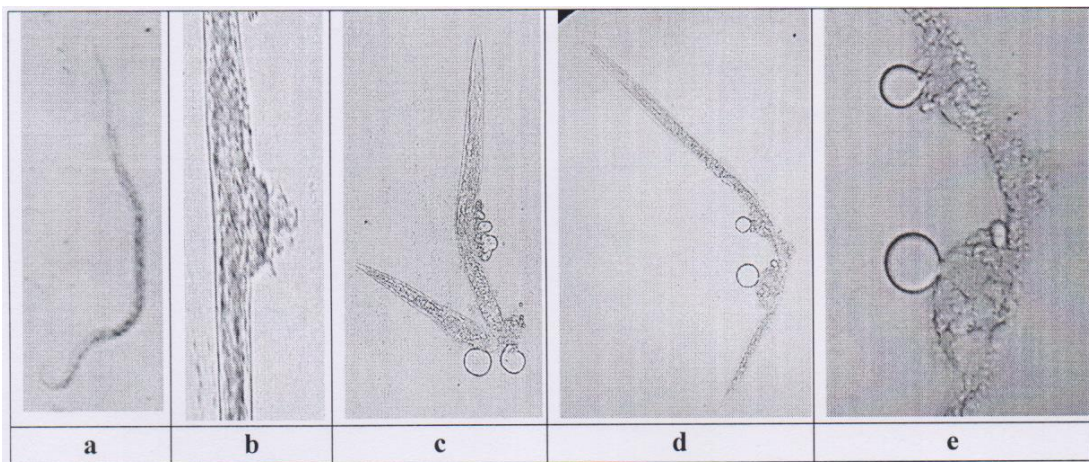


Fig. 2

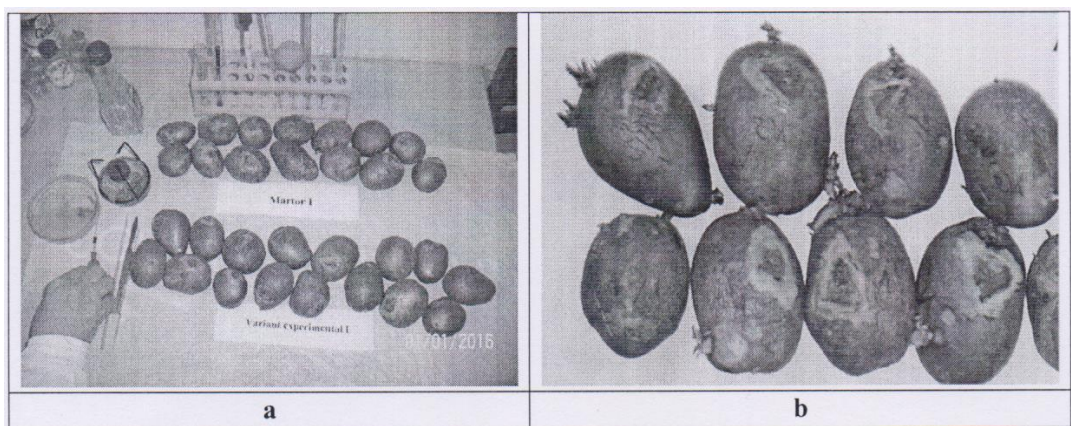


Fig. 3

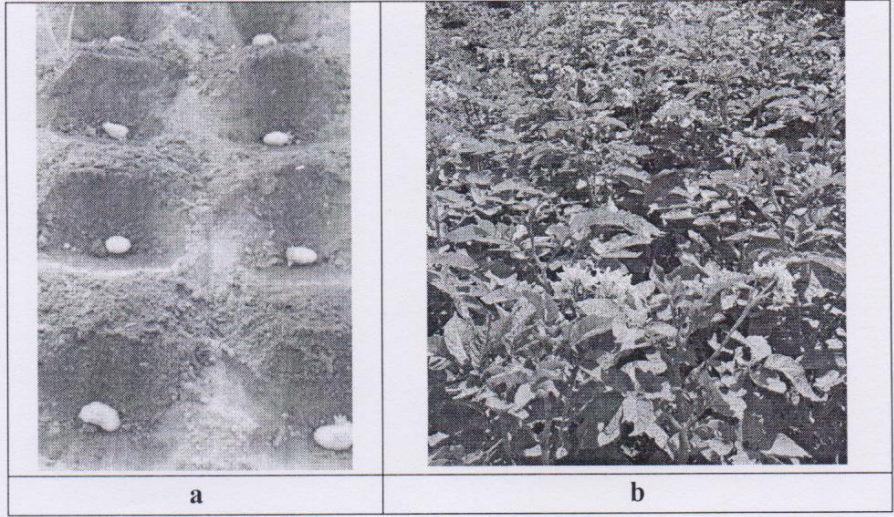


Fig. 4

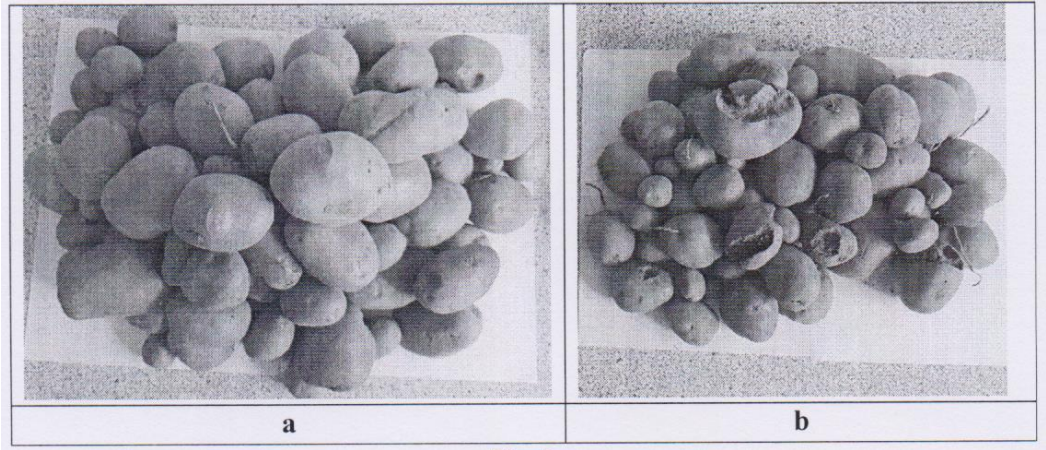


Fig. 5

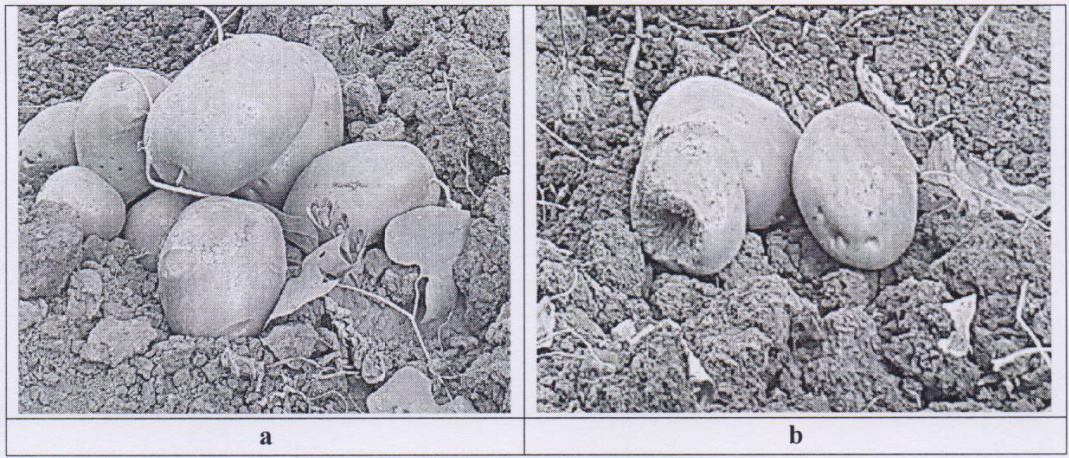


Fig. 6