



METODA DE EVALUARE A POTENTIALULUI BIOLOGIC AL IZOLATELOR MONOSPORALE DE *BEAUVERIA*



Dinu Mihaela-Monica, Lumânare Maria Cristina, Cojanu Daniel, Fătu Ana-Cristina

Institutul de Cercetare-Dezvoltare pentru Protecția Plantelor, București

E-mail autor corespondent: cristina.fatu@icdpp.ro

INTRODUCERE

Controlul microbiologic al insectelor dăunătoare reprezintă o componentă importantă a strategiei de reducere a dependenței de pesticidele chimice și de dezvoltare a agriculturii durabile. Deși numărul biopreparatelor microbiene înregistrate a crescut în ultimii ani, multe potențiale biopesticide nu au fost dezvoltate pentru uz comercial sau au avut succes limitat din cauza utilizării ineficiente. Eficacitatea tratamentelor biologice este conditionată de calitatea materialului biologic utilizat pentru obținerea biopreparatelor, respectiv de potentialul de agenți de control biologic al tulpinilor microbiene. În cazul bioinsecticidelor fungice pe baza de *Beauveria* sp., acesta se referă în principal la capacitatea de menținere și răspândire în natură a entomopatogenului, respectiv de modul, viteza și intensitatea sporularii, de abilitatea tulpinilor fungice de a se răspândi la insecte sanatoase. În lucrare este prezentată o metodă de evaluare a potentialului biologic al izolatelor de *Beauveria* sp., care implică estimarea unor parametri biologici specifici, incluzând procentul de germinare a sporilor, producția de spori pe insecte, procentul de mortalitate a insectelor și distribuția mortalității, durata ciclului de viață a microorganismului. Măsurarea acestor parametri reprezintă criterii obiective de selecție a tulpinilor fungice care pot fi incluse cu succes în programe de control biologic al insectelor daunătoare culturilor agricole.

MATERIAL ȘI METODE

Fungi entomopatogeni: biotipuri *Beauveria* sp. zolate din focare naturale de infecție (BbgICDPP017 și BbgICDPP018). Fiecare tulpină a fost aplicată sub formă de suspensii conidiene apoase, pe larve de *Tenebrio molitor*, utilizate ca insecte test. După sporulare pe cuticula insectelor, s-au făcut izolări monosporale pentru fiecare izolat în parte, pe mediu agarizat peptonă-dextroză-agar. Pentru a obține biomasa fungică pentru biotestare, s-au făcut culturi monosporale în mediul Sabouraud, pornind de la izolatele conservate pe PDA; culturile au fost incubate la 26°C (22 zile). După sporulare, s-au făcut suspensii sporale în apă distilată sterilă (+ 0,01% Tween 80), care au fost aduse la concentrații egale (1×10^7 spori/ml), prin metoda hematocitometrică. Germinarea sporilor a fost determinată prin însămânțarea suspensiei (5 μ l/placă cu mediu agarizat), incubat la 28°C. Pentru evaluarea germinatției, s-au luat probe de mediu agarizat pentru fiecare placă însămânțată. Testul de germinare a fost făcut la 24, 48 și 72 de ore. Sporii au fost considerați germinați atunci când lungimea tubului germinativ a fost mai mare decât jumătate din dimensiunea sporului. Evaluarea fazei saprofite din ciclul biologic al izolatelor fungice s-a bazat pe desfășurarea următoarelor patru evenimente după moartea insectei: (a) numărul de zile necesar emergentei miceliului fungic pe insectă, (b) numărul de zile de la emergenta inițială a miceliului până la acoperirea totală a cadavrului, (c) timpul necesar de la acoperirea maximă a cadavrului cu miceliu fungic până la apariția conidioforilor și (d) timpul de la apariția conidioforilor până la începerea eliberării acestora. Producția de spori a fost determinată randomizat, selectând un număr de trei insecte, spalate individual cu 15 ml de apă distilată sterilă, cu 0,1% Tween 80. Citirea numărului de spori s-a făcut hematocitometric.



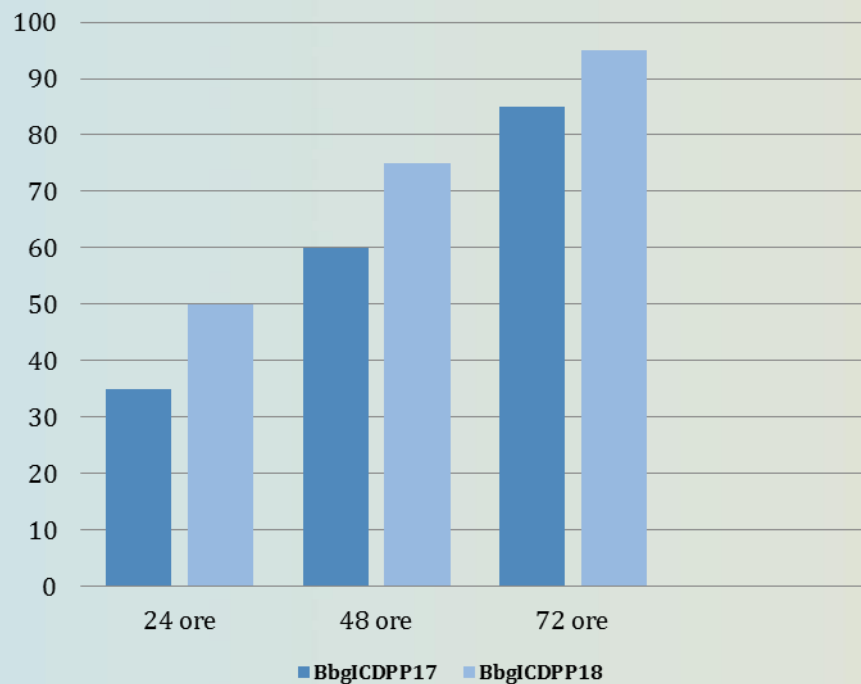
METODA DE EVALUARE A POTENTIALULUI BIOLOGIC AL IZOLATELOR MONOSPORALE DE *BEAUVERIA*



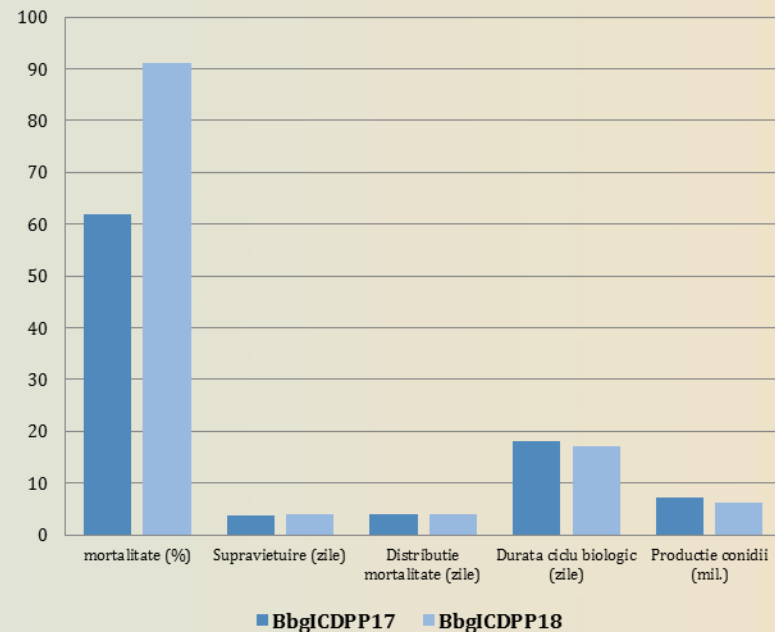
REZULTATE ȘI DISCUȚII

Cuantificarea parametrilor biologici pe baza carora s-au selectat tulpini fungice entomopatogene utilizate ca sursa de material biologic pentru obtinerea bioinsecticidelor

Capacitatea de germinare a conidiilor (%)



Capacitatea de dezvoltare saprofită





METODA DE EVALUARE A POTENTIALULUI BIOLOGIC AL IZOLATELOR MONOSPORALE DE *BEAVERIA*



REZULTATE ȘI DISCUȚII

Caracterizarea fazei saprofite din ciclul biologic al unor biotipuri de *Beauveria* sp. (insecta test *Tenebrio molitor*, L₂ - L₃)



Durata ciclului biologic (18 zile pentru BbgICDPP17, respectiv 17 zile pentru BbgICDPP18) a fost determinată pe baza duratei parametrilor prezentați mai jos:

nr. zile	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
BbgICDPP17	inoculare – mortalitate		mortalitate- inițiere faza saprofita			inițiere- finalizare creștere miceliana			finalizare creștere miceliana- sporogeneza			sporogeneza- eliberare spori						
BbgICDPP18	inoculare – mortalitate		mortalitate- inițiere faza saprofita			inițiere- finalizare creștere miceliana			finalizare creștere miceliana- sporogeneza			sporogeneza- eliberare spori						

CONCLUZII

Metoda de caracterizare biologică a tulpinilor de *Beauveria* sp. este recomandată pentru evaluarea potențialului biologic al izolatelor fungice în etapa de selectare a sursei de material biologic pentru obținerea de bioinsecticide fungice entomopatogene. Pe baza rezultatelor prezentate, a fost evaluat potențialul biologic al unor izolate locale de *Beauveria* sp., aplicând scala elaborată în acest scop în cadrul Laboratorului de Biocontrol al Insectelor, USDA, Agricultural Research Service. În funcție de potențialul biologic cuantificat pe baza parametrilor testați, s-a realizat clasificarea celor două tulpini fungice: ***BbgICDPP17* – tulpina cu potențial mediu, *BbgICDPP18* – tulpina cu potențial bun.**

Sursa de finanțare: Ministerul Cercetării și Inovării (PNCDI III, CCCDI-UEFISCDI, proiect nr. PN-III-P1-1.2-PCCDI-2017-03-01/28PCCDI/2018)