



# NOI SURSE DE MATERIAL BIOLOGIC PENTRU OBTINEREA DE BIOINSECTICIDE PENTRU PROTECȚIA CULTURILOR DE PORUMB



Fătu Ana-Cristina, Lumînare Maria Cristina, Cojanu Daniel, Dinu Mihaela-Monica, Iamandei Maria

\*Autor corespondent: Fătu Ana-Cristina

e-mail: cristina.fatu@icdpp.ro

## INTRODUCERE

Rățișoara porumbului, *Tanymecus dillaticolis*, este cel mai important dăunător al porumbului în România. Adulții atacă plantele tinere în zona coletului (până în faza de 2-3 frunze) sau părțile laterale ale limbului foliar la plantele mature. Plantele atacate pot muri sau pot avea întârzieri de creștere. Pierderile cauzate de atacul populațiilor de *Tanymecus* la culturile de porumb se situează la cca. 30%, chiar în condițiile tratării semințelor cu insecticide sistemice neonicotinoide (Badiu și colab., 2019). Datorită structurii morfologice specifice și a capacității mari de hrănire a insectelor precum și a suprafeței mici a frunzelor plantelor la momentul aplicării insecticidelor, acestea au adesea eficacitate scăzută, fiind necesare tratamente repetate (Bažok și colab., 2012), ceea ce nu este în conformitate cu principiile managementului integrat al dăunătorilor (IPM) și nici cu utilizarea rațională a pesticidelor în agricultura modernă. Prin urmare, este necesar să se ia în considerare metode alternative prietenoase cu mediul și compatibile cu toate practicile agricole.

Fungii entomopatogeni, ca agenți biologici de control, reprezintă dușmanii naturali cel mai des raportați care determină epizootii în agroecosisteme (Rios-Velasco și colab., 2010).

Izolarea fungilor entomopatogeni indigeni este esențială pentru a oferi o perspectivă asupra biodiversității fungice existente în mod natural. De asemenea, în vederea eliberării acestora în agroecosisteme, în scopul combaterii dăunătorilor, este importantă identificarea, evaluarea și conservarea mai multor tulpini entomopatogene cu potențial de biocontrol.

**Scop:** în această lucrare sunt prezentate primele rezultate ale investigațiilor care urmăresc obținerea unor biopreparate în vederea utilizării în combaterea biologică a rățișoarei porumbului precum și informații privind tulpini autohtone de fungi entomopatogeni izolați din focare naturale de *T. dillaticollis* și conservate la Laboratorul de Organisme Utile al Institutului de Cercetare-Dezvoltare pentru Protecția Plantelor, București.



# NOI SURSE DE MATERIAL BIOLOGIC PENTRU OBTINEREA DE BIOINSECTICIDE PENTRU PROTECȚIA CULTURILOR DE PORUMB



## MATERIALE ȘI METODE

### *Izolarea unor tulpini noi de fungi entomopatogeni din *Tanymecus**

Adulți de *T. dilaticollis* au fost colectați în județul Tulcea din culturi de porumb infestare puternic. Insectele au fost aduse și menținute în condiții de laborator, la fotoperioadă de 14 ore lumină/10 ore întuneric și temperatură de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Adulții au fost crescuți pe plante de porumb (*Zea mays*) crescute în laborator și pe pălămidă (*Cirsium arvense*) colectată din câmp. În cursul perioadei de adaptare la condițiile de laborator, s-au înregistrat simptome tipice îmbolnăvirii - unii indivizi au încetat să se mai hrănească, rămânând agățați pe plantă chiar și după moartea lor. Apariția pe suprafața cuticulei insectei moarte a unui miceliu alb a indicat faptul ca moartea s-a datorat unei micoze (Fig.1).



Figura 1. Adulți de *Tanymecus dilaticollis* acoperiți de miceliu fungic - focar natural de infecție

### *Izolarea unor tulpini noi de fungi entomopatogeni din alte insecte*

Insecte moarte (aparținând Ord. Lepidoptera, Hemiptera și Coleoptera) acoperite de miceliu fungic de culoare albă, prelevate din focare naturale de infecție, au fost transferate în camere umede pentru a stimula sporularea fungului. Odată ce a fost observată creșterea și sporularea adecvată, fungul a fost transferat pe mediu semi-selectiv cu ajutorul unui ac de însămânțare. Din aceste culturi, prin subcultivare în eprubete cu mediu PDA (nu mai mult de două ori) au fost obținute culturi pure. Izolatele de *Beauveria* sp. obținute în culturi pure au fost adăugate colecției de fungi entomopatogeni a Laboratorului de Organisme Utile - Colectivul de Biopreparate (Institutul de Cercetare Dezvoltare pentru Protecția Plantelor, București).

*Identificarea morfologică* a izolatelor fungice s-a făcut pe baza cheilor de determinare prezentate de Barnett (1960) și Humber (1997) iar încadrarea taxonomică conform clasificării propuse de Tanada și Kaya (1993) și Humber (1997).

### *Identificarea genetică*

Pentru identificarea la nivel de specie, a fost utilizată analiza secvenței ITS. Astfel, secvențele ITS1 și ITS2 inclusiv gena 5,8 S din ADNr au fost amplificate și secvențiate. Secvențele generate au fost comparate cu secvențele regiunii corespunzătoare ale tulpinilor de referință preluate de la GenBank utilizând algoritmul BLASTN 2.11 (Zhang și colab. 2000).



# NOI SURSE DE MATERIAL BIOLGIC PENTRU OBTINEREA DE BIOINSECTICIDE PENTRU PROTECIA CULTURILOR DE PORUMB



## REZULTATE ȘI DISCUȚII

Au fost analizate morfologic și genetic cinci izolate fungice.

La 4 izolate, caracterele morfologice observate s-au dovedit a fi tipice pentru genul *Beauveria* – hife hialine, septate, cu contur regulat, purtând celule bazale conidiogene din care se formează un rahis denticulat sau zig-zag cu câte o conidie per denticul; conidii unicelulare globuloase spre elipsoidale, hidrofobe, mici (Fig.2a).

În cazul izolatului obținut dintr-o insectă aparținând Ord. Coleoptera s-au observat caracteristici microscopice tipice genului *Metarhizium* - conidiofori erecți, ramificați, agregași în smocuri dense cu ramificații verticilate; fialide clavate dispuse în paralel, măsurând 9-14 μm lungime, având un apex rotunjit; conidii produse în lanțuri, de formă cilindrică și dimensiuni 5-8 x 2.5-3.5 μm (Fig 2.b).

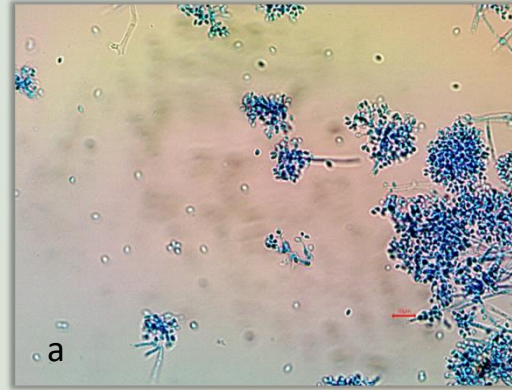


Figura 2. Morfologia conidiilor de *Beauveria* (a) și *Metarhizium* (b) cultivate pe mediu PDA și respectiv SDAY

Analiza genetică a arătat că din cele cinci izolate, două au fost identificate ca fiind *Beauveria pseudobassiana*, două *Beauveria bassiana* (insecta gazdă *Tanymecus dilaticollis*) și o tulpină de *Metarhizium anisopliae*.

## CONCLUZII

Au fost identificate infecții spontane cu *Beauveria bassiana* la *Tanymecus dilaticollis*,

Au fost identificate infecții spontane cu *B. pseudobassiana* la insecte aparținând Ord. Lepidoptera și Hemiptera,

Au fost identificate infecții spontane cu *Metarhizium anisopliae* la insecte aparținând Ord. Coleoptera,

Toate speciile fungice au fost izolate cu succes și cultivate pe medii artificiale,

Izolatele de *B. bassiana* vor fi testate în vederea determinării virulenței împotriva dăunătorului *T. dilaticollis* pentru a stabili potențialul de biocontrol.

Studiile s-au desfășurat în cadrul proiectului sectorial ADER 156: "Identificarea de insecticide biologice compatibile cu sistemul integrat de prevenire și combatere a dăunătorului *Tanymecus dilaticollis* și dăunătorilor de sol din cultura de porumb"