



MD 3054 G2 2006.05.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **3054** ⁽¹³⁾ **G2**
(51) **Int. Cl.: C05F 11/08** (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)
C12R 1/41 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. depozit: a 2005 0248 (22) Data depozit: 2005.08.25	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2006.05.31, BOPI nr. 5/2006
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD (72) Inventatori: ONOFRAȘ Leonid, MD; TODIRAȘ Vasile, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD	

(54) **Tulpină de bacterii *Rhizobium phaseoli* cu activitate azotfixatoare**
(57) **Rezumat:**

1
Invenția se referă la biotehnologie și poate fi aplicată în fitotehnie.

Se propune o tulpină de bacterii de nodozități *Rhizobium phaseoli* cu activitate azotfixatoare pentru tratarea semințelor de fasole. Tulpina este depozitată în Colecția Națională de Microorganisme

2
5 Nepatogene a Republicii Moldova cu numărul CNMN-RB-05.

Rezultatul constă în sporirea activității azotfixatoare a sistemului rizobio-radicular la fasole.

Revendicări: 1

10

MD 3054 G2 2006.05.31

Descriere:

Invenția se referă la biotehnologie și poate fi folosită în fitotehnie.

Se cunosc îngrășămintele microbiene, care sunt utilizate pe larg la plantele leguminoase.

Se mai cunoaște tulpina de *Rhizobium phaseoli* CNM-RB-04 cu capacitate de fixare a azotului atmosferic, care în simbioză cu planta-gazdă servește ca materie primă de obținere a preparatului microbial pentru tratarea semințelor de fasole [1].

Dezavantajul tulpinii *Rhizobium phaseoli* CNM-RB-04 constă în faptul că activitatea de fixare a azotului atmosferic este relativ scăzută, iar productivitatea plantelor mică.

Problema pe care o rezolvă invenția propusă este obținerea unei noi tulpini de bacterii de nodozități pentru fasole cu o activitate mai sporită de fixare a azotului atmosferic și cu o productivitate mai înaltă.

Problema propusă a fost soluționată grație creării noii tulpini de bacterie *Rhizobium phaseoli* CNMN-RB-05 cu activitate azotfixatoare. Noua tulpină de *Rhizobium phaseoli* CNMN-RB-05 formează un sistem rizobio-radicular mai activ și mai eficient decât tulpina *Rhizobium phaseoli* CNM-RB-04, iar productivitatea plantelor este mai înaltă. Tulpina a fost izolată din nodozitățile de culoare roz deschis, formate pe rădăcinile plantelor de fasole (soiul Aluna), cultivate pe sol cernoziom obișnuit din zona centrală a Republicii Moldova, r-nul Criuleni, s. Roșcana.

Izolarea și selectarea bacteriilor de nodozități s-a efectuat conform metodelor aprobate.

Tulpina se păstrează în Colecția Națională de Microorganisme Nepatogene la Institutul de Microbiologie al Academiei de Științe a Republicii Moldova cu nr. CNMN-RB-05.

Particularitățile morfo-culturale.

Dimensiunile celulelor culturii de 3 zile pe geloză de fasole sunt de (0,5...0,9) x (1,2...3,0) mm, au formă de bastonașe mobile, se mișcă cu ajutorul a 2...6 cili. Nu formează spori, sunt gram-negative, cresc rapid.

Coloniile sunt de culoare albă, mucilaginoase, strălucitoare, de mărimea 1,8...4,5 mm. Cresc abundent pe geloză de fasole și pe mediile cu extract de porumb și melasă. Pe geloză peptonată nu cresc.

Particularitățile fiziologo-biochimice.

Tulpina este aerobă, mezofilă. Temperatura optimă pentru dezvoltare 26...28°C. Aciditatea optimă pH 6,8...7,0. Crește bine pe mediile cu săruri de amoniu și amină acidulată. Activ asimilează săruri de azot și amoniu. Nu asimilează celuloza și amidonul. Gelatina nu se lichefiază, laptele îl face lunecos sau slab îl peptonează. Cazeina și agarul nu se hidrolizează.

Tulpina nu este patogenă. Se păstrează bine pe geloză de fasole la temperatura de +4...+5°C. Reînsămânțarea tulpinii se efectuează o dată în 4 luni.

Conform invenției propuse se obține următorul rezultat: se formează un sistem rizobio-radicular mai activ și mai efektiv decât la tulpina din cea mai apropiată soluție, ceea ce permite majorarea capacității de fixare a azotului atmosferic, sporirea recoltei de boabe și îmbunătățirea calității producției obținute.

Exemple de folosire a tulpinii *Rhizobium phaseoli* CNMN-RB-05.

Exemplul 1

Experimente microvegetative

În experimentele microvegetative au fost folosite semințele de fasole, soiul Aluna, omologat în Republica Moldova.

Experimentele au fost efectuate în condiții de climă modelată în vase cu cernoziom obișnuit (cu umiditatea de 60...80% din umiditatea totală) în 3 repetiții.

Tratarea semințelor s-a efectuat cu tulpina de rizobii având vârsta de 3 zile. Pentru evidență și dezvoltare în fiecare vas au fost lăsate câte 4 plante. În fazele de îmbobocire și începutul înfloririi plantelor s-a determinat numărul de nodozități pe rădăcini, activitatea azotfixatoare a sistemului rizobio-radicular și biomasa plantelor.

S-a stabilit că numărul de nodozități în medie la o plantă s-a mărit de 2 ori, activitatea azotfixatoare de 2,4 ori, iar masa brută și uscată a plantelor respectiv cu 30,7 și 19,5% față de tulpina *Rhizobium phaseoli* CNM-RB-04 (cea mai apropiată soluție).

Astfel, rezultatele obținute în experimentele vegetative au arătat că tulpina propusă *Rhizobium phaseoli* CNMN-RB-05 este mai activă și mai eficientă față de tulpina *Rhizobium phaseoli* CNM-RB-04.

Exemplul 2

Experimentul a fost efectuat în condiții de câmp pe teritoriul Bazei Științifice Experimentale a A.Ș.R.M., solul cernoziom obișnuit, pH 7,4, în 3 repetiții, folosind fasolea de soiul Aluna.

Tratarea semințelor s-a efectuat conform instrucțiunii elaborate de laboratorul de fixare a azotului al A.Ș.R.M., care constă în următoarele: semințele se tratează într-un loc umbrat cu suspensii de celule ale bacteriei propuse și ale tulpinii *Rhizobium phaseoli* CNM-RB-04. Semințele tratate se usucă timp de 20...30 min, apoi se încorporează în sol la adâncimea de 5...7 cm.

Fiecare variantă a experimentului a fost efectuată în 3 repetiții.

MD 3054 G2 2006.05.31

4

Conform rezultatelor obținute cea mai înaltă activitate azotfixatoare a sistemului rizobio-radicular a fost stabilită în faza de înflorire a plantelor. În această fază s-a determinat activitatea azotfixatoare a sistemului rizobio-radicular și s-a calculat numărul de nodozități formate la plante sub influența tulpinilor *Rhizobium phaseoli* CNM-RB-04 și *Rhizobium phaseoli* CNMN-RB-05.

5 La sfârșitul perioadei de vegetație s-a măsurat înălțimea plantelor, masa a 1000 de boabe și recolta de boabe.

Rezultatele obținute sunt prezentate în tabel.

Tabel

Influența bacteriilor de nodozități asupra dezvoltării plantelor și recoltei de boabe în condiții de câmp (soiul Aluna)

Varianta	Înălțimea plantelor (în medie la o plantă), cm, M±m	Numărul de nodozități în medie la o plantă, buc., M±m	Activitatea azotfixatoare, mg N ₂ plantă/oră	Masa a 1000 de boabe, g, M±m	Recolta de boabe, q/ha, M±m
Tratarea semințelor de fasole cu tulp. <i>Rhizobium phaseoli</i> CNM-RB-04	52,0±0,5	36,0±2,0	20,2	155,2±3,6	15,3±0,3
Tratarea semințelor de fasole cu tulp. <i>Rhizobium phaseoli</i> CNMN-RB-05	58,0±0,8	64,0±5,2	27,4	170,1±2,6	17,80±0,8

Conform rezultatelor obținute tulpina *Rhizobium phaseoli* CNMN-RB-05 după majoritatea indicilor este mai eficientă decât tulpina *Rhizobium phaseoli* CNM-RB-04 și anume: s-a mărit numărul de nodozități de 1,78 ori, activitatea azotfixatoare de 1,35 ori, înălțimea plantelor cu 11,5%, masa a 1000 de boabe cu 9,6%, iar recolta de boabe cu 16,3%.

(57) Revendicare:

Tulpină de bacterie *Rhizobium phaseoli* CNMN-RB-05 cu activitate azotfixatoare pentru tratarea semințelor de fasole.

(56) Referințe bibliografice:

1. MD 2387 C1 29.02.2004

Director Departament: JOVMIR Tudor

Examinator: GUȘAN Ala

Redactor: LOZOVANU Maria

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2005 0248	(85) Data fazei naționale PCT:
(22) Data depozit: 2005.08.25	(86) Cerere internațională PCT:
Prioritatea invocată : (31) nr.: 32) data : 33) țara : (51) : Int.Cl: C05F 11/08 (2006.01) C12N 1/20 (2006.01) C12R 1/41 (2006.01)	
Alți indici de clasificare: Titlul : Tulpină de bacterii <i>Rhizobium phaseoli</i> cu activitate azotfixatoare (71) Solicitantul : INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD Termeni caracteristici : bacterii, <i>Rhizobium phaseoli</i> , activitate azotfixatoare	
I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl. (7)	
MD 1994-2005, EA 1996-2005, SU 1070-1992, inclusiv și colecția „nepublică”	
II. Documente considerate ca relevante	
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si indicarea pasajelor pertinente
A	MD 2387 C1 29.02.2004
Numărul revendicării vizate	
1	
☐ Documentele următoare sunt indicate în continuare a rubricii II	
☐ Informația referitoare la brevete paralele se anexează	
* categoriile speciale ale documentelor consultate:	
A - document care definește stadiul anterior general	T - document publicat după data de depozit sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidența principiul sau teoria care conține baza invenției
E - document anterior dar publicat la data de depozit național reglementar sau după aceasta data	X - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă
L - document care poate pune în discuție data priorității invocate, poate contribui la determinarea datei publicării altor divulgări sau pentru un motiv expres (se va indica motivul)	Y - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă cand documentul este asociat cu unul sau mai multe alte documente de aceeași natură, aceasta combinație fiind evidentă pentru o persoană de specialitate
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expunere sau orice altă	& - document care face parte din aceeași familie de documente
Data finalizării documentării	14.03.2006
Examinatorul	Gușan Ala