

Invenția se referă la biotehnologie, în special la o tulpină de bacterii *Rhizobium japonicum* și poate fi utilizată în fitotehnie.

Se cunoaște ca îngrășămintele microbiene se utilizează pe larg la cultivarea plantelor leguminoase [1, 2].

Se cunoaște, de asemenea, că la producerea îngrășământului biologic pentru soia se utilizează tulpina de bacterii *Rhizobium japonicum* 646a cu activitate de fixare a azotului atmosferic în simbioza cu planta-gază [3].

Dezavantajul tulpinii *Rhizobium japonicum* 646a constă în aceea că activitatea de fixare a azotului este insuficientă și nestabilă.

Problema pe care o rezolvă invenția propusă este obținerea unei noi tulpini de bacterii de nodozități pentru soia cu un potențial sporit de fixare a azotului atmosferic față de tulpina-etalon.

Problema propusă se soluționează prin aceea că se propune utilizarea tulpinii de bacterii *Rhizobium japonicum* CNMN RB-06 – fixatoare de azot în calitate de simbiotrof pentru soia.

Rezultatul tehnic: tulpina propusă *Rhizobium japonicum* CNMN RB-06 formează un sistem rizobio-radicular mai activ și mai efektiv față de tulpina deja cunoscută *Rhizobium japonicum* 646a.

Tulpina se păstrează în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM cu nr. CNMN RB-06.

Exemple de realizare a invenției

Izolarea și selectarea tulpinii s-a făcut din nodozități de bacterii mari de culoare roz de pe rădăcinile plantelor de soia bine dezvoltate din zona de nord a Moldovei, raionul Râșcani, comuna Damascani. Bacteriile au fost izolate și selectate conform metodei aprobate [4].

Particularitățile morfologice culturale: bacteria este gram-negativă, nu sporulează, celulele culturii pe geloză de mazăre la a 5-a zi de cultivare au mărimea de 2,0...3,0 x 1,0...1,2 μm și formă de bacili. În faza inițială de creștere și dezvoltare monotrihii sunt mobili. Cu timpul baciliile își pierd mobilitatea și formează bacterioizi de dimensiuni mari și se prezintă în formă de bastonașe. Creșterea culturii este lentă. Însămânțată pe geloza de mazăre, formează abundent o masă mucilaginoasă de culoare albă, strălucitoare. Coloniile la a 8-9 zi sunt mici de aproximativ 1 mm, ovale, bombate, albe, mucilaginoase.

Particularitățile fiziologo-biochimice ale tulpinii: aerobe, temperatura optimă de creștere +26...28°C, coloniile apar peste 9...10 zile de cultivare, pH-ul optimal 6,8...7,2. Crește bine pe medii cu azot de natriu, cu săruri de amoniu. Pe agar peptonat nu crește. Nu lichefiază gelatina, foarte activ asimilează zaharoza, maltoza, lactoza, mai puțin glucoza, foarte puțin xeloza. Nu asimilează celuloza și amidonul.

Se păstrează la temperatura de +4...5°C pe geloza înclinată pe mediu din făină de mazăre. Reînsămânțarea tulpinii se efectuează o dată la 5 luni.

Exemplul 1

În experimentele vegetative de laborator (în vase cu sol nesteril) în calitate de material semincer s-au folosit boabe de soia (soiul Aura).

Experimentele s-au efectuat în condiții de cameră cu climă artificială la temperatura de 20...24°C, umiditatea solului de 60...80% și iluminarea de zi. Durata experimentului – 30 zile.

Prelucrarea semințelor de soia s-a făcut cu tulpina de bacterii cu vârsta de 3 zile. Pentru creștere și dezvoltare în fiecare vas s-au lăsat câte 2 plante, în 3 repetiții.

Rezultatele obținute în experimentul de laborator au arătat că tulpina *Rhizobium japonicum* CNMN RB-06 în comparație cu tulpina *Rhizobium japonicum* 646a este mai eficientă (tab. 1).

Tabelul 1

Influența bacteriilor *Rhizobium japonicum* asupra activității azotofixatoare la soia (experiment vegetativ de laborator). Date medii la o plantă

Varianta	Masa brută a plantelor, g M±m	Masa uscată a plantelor, g M±m	Fixarea N ₂ atmosferic, μg/N ₂ /pl./oră
Tratarea semințelor de soia cu tulpina <i>Rhizobium japonicum</i> 646a-etalon	2,75±0,14	0,19±0,01	0,74
Tratarea semințelor de soia cu tulpina <i>Rhizobium japonicum</i> CNMN RB-06 (propusă)	3,29±0,26	0,25±0,02	0,99

Acumularea de masă brută și uscată la soia sub influența tulpinii propuse a sporit cu 19,6 și, respectiv, 31,6%, iar activitatea azotofixatoare – cu 33,8%.

Exemplul 2

În scopul aprecierii bacteriilor menționate a fost montat un experiment în condiții de câmp pe teritoriul Bazei Experimentale a Academiei de Științe. Solul – cernoziom obișnuit, pH – 7,4, conținutul de humus – 3,2%. S-au folosit semințe de soia, soiul Aura. Experiența a fost efectuată în 3 repetiții.

Semințele de soia au fost tratate cu o suspensie de celule a tulpinii propuse *Rhizobium japonicum* CNMN RB-06 și a tulpinii *Rhizobium japonicum* 646a.

Tehnologia de pregătire a semințelor pentru semănat s-a făcut conform instrucțiunii elaborate de laboratorul de fixare a azotului al AȘM (în prezent – lab. Fitomicrobiologie). Tehnologia constă în următoarele: semințele se

tratează cu o suspensie de celule ale bacteriei propuse și a tulpinii analoge *Rhizobium japonicum* 646a, într-un loc umbrit. După tratare semințele se usucă timp de 20...30 min, apoi se încorporează în sol.

În fazele de îmbobocire – înflorire s-a determinat activitatea azotofixatoare a sistemului rizobio-bacterian la plantele de soia sub influența tulpinii propuse și celei analoge (tab. 2).

Tabelul 2

Eficacitatea tulpinilor de nodozități asupra capacității azotofixatoare la soia în condiții de câmp

Varianta	Activitatea sistemului rizobio-radicular, $\mu\text{g}/\text{N}_2/\text{oră}$
Martor fără tratare	134,38
Tratarea semințelor de soia cu tulpina <i>Rhizobium japonicum</i> 646a	157,77
Tratarea semințelor de soia cu tulpina <i>Rhizobium japonicum</i> CNMN RB-06	172,53

Rezultatele obținute au demonstrat că tulpina propusă *Rhizobium japonicum* CNMN RB-06 în condiții de câmp este mai activă și mai productivă față de cea analogă *Rhizobium japonicum* 646a. În urma tratării semințelor, conform tehnologiei propuse, cu suspensia de celule a tulpinii *Rhizobium japonicum* CNMN RB-06, activitatea azotofixatoare s-a majorat cu 9,4% față de tulpina analogă *Rhizobium japonicum* 646a.

Acest indice s-a majorat considerabil față de martorul netratat (tab. 2).

Exemplul 3

În scopul verificării prin comparație a rezultatelor obținute în experimentele efectuate anterior, a fost montată o experiență pe câmpul de testări a culturilor agricole a Ministerului Agriculturii și Industriei Alimentare din s. Băcioi, mun. Chișinău.

Condițiile de exercitare a experimentului au fost următoarele:

- solul – cernoziom carbonat, pH – 7,0...7,2.
- planta-gazdă: soia, soiul Aura,
- bacteria testată – tulpina *Rhizobium japonicum* CNMN RB-06,
- tulpina-etalon - *Rhizobium japonicum* 646a,
- utilizarea bacteriilor s-a făcut prin prelucrarea semințelor de soia cu tulpinile respective înainte de semănat,
- martorul – fără tratarea semințelor.

Datele experimentale sunt prezentate în tab. 3.

Tabelul 3

Influența bacteriilor de nodozități *Rhizobium japonicum* asupra capacității azotofixatoare și productivității la soia în condiții de câmp (producere) – s. Băcioi, mun. Chișinău

Varianta	Activitatea azotofixatoare, $\mu\text{g}/\text{N}_2/\text{pl.}/\text{oră}$	Recolta de boabe, kg/parcelă $M\pm m$
Martor (fără tratare)	6,2	6,30 \pm 0,42
Tratarea semințelor de soia cu tulpina <i>Rhizobium japonicum</i> 646a(analogă)	69,3	8,10 \pm 0,14
Tratarea semințelor de soia cu tulpina <i>Rhizobium japonicum</i> CNMN RB-06 (propusă)	110,4	8,65 \pm 0,21

În condiții de câmp (producere) tulpina *Rhizobium japonicum* CNMN RB-06 a fost mai productivă în comparație cu tulpina *Rhizobium japonicum* 646a. Sub influența tratării semințelor de soia cu tulpina propusă în comparație cu tulpina analogă activitatea azotofixatoare s-a majorat cu 59,3%, iar recolta de boabe – cu 6,8%.