



MD 1276 Y 2018.08.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1276** (13) **Y**
(51) Int.Cl: C12N 1/20 (2006.01)
C12R 1/125 (2006.01)

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

În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție de scurtă durată, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului

(21) Nr. depozit: s 2017 0123
(22) Data depozit: 2017.11.29

(45) Data publicării hotărârii de
acordare a brevetului:
2018.08.31, BOPI nr. 8/2018

(71) Solicitant: INSTITUTUL DE GENETICĂ, FIZIOLOGIE ȘI PROTECȚIE A PLANTELOR AL
ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD

(72) Inventatori: ȘUBINA Victoria, MD; VOLOȘCIUC Leonid, MD; BURȚEVA Svetlana, MD

(73) Titular: INSTITUTUL DE GENETICĂ, FIZIOLOGIE ȘI PROTECȚIE A PLANTELOR AL
ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD

(54) Mediu nutritiv pentru păstrarea tulpinii de bacterii *Bacillus subtilis* CNMN-
BB-09

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la microbiologie, și
anume la un mediu nutritiv pentru păstrarea
tulpinii de bacterii *Bacillus subtilis* CNMN-
BB-09.

Mediul nutritiv, conform invenției,
conține, în g/L: sulfat de amoniu 1,4, fosfat

2
monobazic de potasiu 1,5, fosfat dibazic de
sodiu 2,5, clorură de sodiu 0,5, glucoză 2,0,
drojdii uscate 4,0, citrat de sodiu 0,25,
triptonă 0,25, sorbat de potasiu 10, glicerină
4,0 mL, melasă 10 mL și apă restul.

Revendicări: 1

MD 1276 Y 2018.08.31

(54) Nutrient medium for storage of bacterial strain *Bacillus subtilis* CNMN-BB-09

(57) Abstract:

1
The invention relates to microbiology, in particular to a nutrient medium for storage of bacterial strain *Bacillus subtilis* CNMN-BB-09.

The nutrient medium, according to the invention, comprises, in g/L: ammonium sulphate 1.4, monosubstituted potassium

2
phosphate 1.5, disubstituted sodium phosphate 2.5, sodium chloride 0.5, glucose 2.0, dry yeast 4.0, sodium citrate 0.25, tryptone 0.25, potassium sorbate 10, glycerin 4.0 mL, molasses 10 mL and water the rest.

Claims: 1

(54) Питательная среда для хранения штамма бактерий *Bacillus subtilis* CNMN-BB-09

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к микробиологии, а именно к питательной среде для хранения штамма бактерий *Bacillus subtilis* CNMN-BB-09.

Питательная среда, согласно изобретению, содержит, в г/л: сульфат аммония 1,4, калий фосфорнокислый

2
однозамещенный 1,5, натрий фосфорнокислый двузамещенный 2,5, хлорид натрия 0,5, глюкозу 2,0, дрожжи сухие 4,0, цитрат натрия 0,25, триптон 0,25, сорбат калия 10, глицерин 4,0 мл, мелассу 10 мл и воду остальное.

П. формулы: 1

Descriere:
(Descrierea se publică în redacția solicitantului)

- 5 Invenția se referă la microbiologie, și anume la mediile nutritive pentru păstrarea microorganismelor cu scopul obținerii preparatelor bacteriene.
- Este cunoscut mediul nutritiv cu următoarea compoziție (g/l): tărâțe de grâu – 40,0, fosfat monobazic de potasiu – 1,5, sulfat de magneziu – 0,9, carbonat de calciu – 1,0, extract de porumb – 1,0, sare de acid humic 2,0% vol, pH $7,0 \pm 0,1$ (Сираева З.Ю. и др., 2010) [1]. Dezavantajul acestui mediu îl reprezintă durata scurtă de conservare și
- 10 utilizarea tărâțelor, dând un depozit mare și necesitând adăugarea separată a fiecărui recipient individual.
- Problema pe care o rezolvă invenția consta în prelungirea termenului de păstrare a tulpinii bacteriene *Bacillus subtilis* CNMN-BB-09 și simplificarea procesului de
- 15 preparare a mediului nutritiv.
- Mediul nutritiv conform invenției conține(g/l): sulfat de amoniu – 1,4, fosfat monobazic de potasiu – 1,5, fosfat dibazic de sodiu – 2,5, clorură de sodiu – 0,5, glucoză – 2,0, drojii uscate – 4,0, citrat de sodiu – 0,25, triptonă – 0,25, glicerină – 4,0 ml, sorbat de potasiu – 10,0 g, melasă – 10,0 ml, apă – restul.
- 20 Rezultatul tehnic al invenției este prelungirea termenului de păstrare a culturii bacteriene cercetate.
- Exemplu de realizare a invenției
- Obiectul cercetării a fost tulpina activă a bacteriei *Bacillus subtilis* CNMN-BB-09, extrasă din rizosfera tomatelor. În procesul de cercetare a păstrării culturii bacteriene
- 25 *Bacillus subtilis* CNMN-BB-09 au fost verificate 21 de variante de mediu nutritiv. Drept cea mai apropiată soluție a servit mediul cu următoarea compoziție (g/l): tărâțe de grau – 40,0, fosfat monobazic de potasiu – 1,5, sulfat de magneziu – 0,9, carbonat de calciu – 1,0, extract de porumb – 1,0, sare de acid humic 2,0% vol, apă – restul, pH $7,0 \pm 0,1$ (Сираева З.Ю. и др., 2010) [1]. Pentru a obține o perioadă de păstrare mai
- 30 îndelungată în mediul nutritiv pentru cultivare (Brevet de invenție MD 1106 Y 2016.12.31) au fost introduse următoarele adaosuri sterile: glicerină – 4,0 ml/l, sorbat de potasiu – 10g/l, melasa – 10 ml/l. În prealabil toate componentele introduse au fost sterilizate.
- Tulpina bacteriei *Bacillus subtilis* CNMN-BB-09 a fost cultivată în flacoane de
- 35 sticlă, conținând câte 250 ml de mediu nutritiv, și anume de medii bine cunoscute și mediul propus. Cultivarea a avut loc la $t\ 28^{\circ}\text{C}$ timp de 2 zile. Apoi, în flacoane s-au introdus următoarele substanțe: glicerină – 4,0 ml/l, sorbat de potasiu – 10 g/l, melasă – 10 ml/l. După aceasta, flacoanele au fost plasate pe o platformă la temperatura camerei pentru păstrare. Pentru a determina titrul culturii au fost preluate lunar probe timp de
- 40 jumătate de an. Pentru aceasta s-a aplicat metoda diluțiilor limită (Еропов Н.С., 1995). Datele pentru determinarea titrului culturii sunt prezentate în tabelul 1. Datele pentru determinarea activității antifungice a culturii bacteriene studiate sunt prezentate în tabelul 2.
- 45 Tabelul 1. Influența diferitor adaosuri asupra titrului *Bacillus subtilis* CNMN-BB-09 în timpul păstrării formei preparative lichide

Mediul nutritiv	Perioada de păstrare (luni), titrul (CFU/ml)			
	2	4	6	8
Cea mai apropiată soluție	$8,1 \cdot 10^9$	$2,7 \cdot 10^8$	$8,8 \cdot 10^7$	$9,1 \cdot 10^6$
Mediul propus în invenție	$8,6 \cdot 10^9$	$1,6 \cdot 10^9$	$6,1 \cdot 10^8$	$2,1 \cdot 10^8$

Tabelul 2. Influența diferitor adaosuri asupra activității antifungice a *Bacillus subtilis* CNMN-BB-09 în timpul păstrării formei preparative lichide

Mediul nutritiv	Perioada de păstrare (luni), raza zonei de reținere a creșterii (mm)			
	2	4	6	8
Cea mai apropiată soluție	19,0 ± 1,3	18,2 ± 1,1	18,5 ± 1,5	14,1 ± 0,9
Mediul propus în invenție	21,3 ± 0,3	27,0 ± 0,7	25,0 ± 0,0	22,5 ± 1,0

- 5 Conform datelor prezentate în tabelul 1 se observă că după 8 luni de păstrare a culturii bacteriene *Bacillus subtilis* CNMN-BB-09 pe mediul acceptat titrul se micșorează până la $9,1 \times 10^6$, pe cand la cultivarea pe mediul propus titrul constituie $2,1 \times 10^8$. În urma analizei activității antifungice a culturii *Bacillus subtilis* CNMN-BB-09 (tabelul 2), se observă că nu numai că se păstrează, dar și se depășesc dimensiunile
- 10 zonelor de inhibiție a creșterii patogenului în timpul păstrării îndelungate pe mediul propus față de cea mai apropiată soluție.

Astfel, mediul nutritiv propus poate servi ca bază pentru păstrarea culturii *Bacillus subtilis* CNMN-BB-09 sub formă preparativă lichidă.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Сираева З.Ю., Захарова Н.Г., Ильинская О.Н. Технология и оценка стабильности при хранении жидкой препаративной формы биофунгицида бацизулин. Ученые записки Казанского университета. 2010, т. 152, кн.4, р. 169-178

(57) Revendicări:

Mediu nutritiv pentru păstrarea tulpinii de bacterii *Bacillus subtilis* CNMN-BB-09, care conține, în g/L: sulfat de amoniu 1,4, fosfat monobazic de potasiu 1,5, fosfat dibazic de sodiu 2,5, clorură de sodiu 0,5, glucoză 2,0, drojdii uscate 4,0, citrat de sodiu 0,25, triptonă 0,25, sorbat de potasiu 10, glicerină 4,0 mL, melasă 10 mL și apă restul.