



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2010 01161**

(22) Data de depozit: **24.11.2010**

(41) Data publicării cererii:
29.06.2012 BOPI nr. **6/2012**

(71) Solicitant:
• **INSTITUTUL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
PROTECȚIA PLANTELOR,**
BD. ION IONESCU DE LA BRAD NR. 8,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• **OANCEA FLORIN, STR. PAȘCANI NR.5,**
BL.D7, SC.E, ET.2, AP.45, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;

• **ȘTEFAN AURORA LILIANA,**
BD. ION IONESCU DE LA BRAD NR.8,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
• **LUPU CARMEN, INTRAREA BÂRSEI**
NR.5, BL.G3, SC.A, ET.2, AP.24,
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO

(54) **TULPINĂ DE *TRICHODERMA PSEUDOKONINGII* DESTINATĂ
SISTEMELOR DE AGRICULTURĂ CONSERVATIVĂ**

(57) Rezumat:

Prezenta invenție se referă la o tulpină de *Trichoderma pseudoconingii* Td85, număr DSM 23661, destinată sistemelor de agricultură conservativă, având un spectru larg de acțiune, inclusiv față de patogeni de sol din genurile *Fusarium*, *Sclerotium*, *Sclerotinia*, și față de cei producători de putregaiuri ca *Botrytis*, prezentând o capacitate ridicată de mineralizare a materialului vegetal, cu eliberare de nutrienți și compuși biologic

activi, cu rezistență naturală ridicată la compuși bio-fumiganți, eliberați din biomasa de crucifere și care determină creșteri de producție la soia cultivată conservativ, prin aplicare pe mulciul din resturi vegetale cu care s-a realizat biofumigație.

Revendicări: 1



11

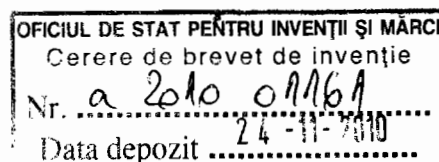
TULPINA DE *TRICHODERMA PSEUDOKONINGII* DESTINATA SISTEMELOR DE AGRICULTURA CONSERVATIVA

Inventia se refera la o tulpina de *Trichoderma pseudokoningii*, număr de depozit DSM 23661, care prezintă concomitent antagonism față de agenții fitopatogeni din sol, capacitate ridicată de mineralizare a materialului vegetal și rezistență la compușii biofumiganți eliberați din biomasa de crucifere, și care este destinată sistemelor de agricultură conservativă, în special celor care utilizează proprietățile de biofumigare ale culturilor de crucifere.

Sunt cunoscute mai multe tulpini de *Trichoderma* cu acțiune de protecție a plantelor cultivate împotriva agenților fitopatogeni. Brevetul SUA 5 266 316 descrie izolatul T-39 de *Trichoderma harzianum* (depozitat cu numărul I-952 la Collection Nationale de Culture de Microorganismes, Paris. Acest izolat are o rezistență ridicată la fungicide și este activ față de ciupercile producătoare de mucegaiuri (*Botrytis cinerea* și *Sclerotinia sclerotiorum*). Brevetul SUA 5 422 107 prezintă tulpina SK-55 de *Trichoderma harzianum*, număr de depozit BP 4346 NIBH, destinată pentru tratamentul agenților fitopatogeni de sol. Brevetul SUA 7 070 984 protejează tulpina Li49, depozitată la ATTC cu numărul PTA-1225. Tulpina este cultivată aseptice pe un mediu lichid, iar biomasa este recuperată și adăugată în proporție de cel puțin 10% într-un suport organic alcătuit din boabe de cereale, turbă și compost. Biopreparatul astfel rezultat este utilizat pentru tratament împotriva agenților fitopatogeni din sol. Brevetul EP 1400 586 se referă la ciuperca antagoniste *Trichoderma asperellum* T34(2), depozitată CECT No 20147, care este activă de asemenea față de agenții fitopatogeni din sol.

Nici una dintre tulpinile brevetate până în prezent nu a fost descrisă ca având rezistență la compușii biofumiganți eliberați din biomasa de crucifere. În biomasa de crucifere există glucozinolați care, sub acțiunea specifică a mirozinazei, eliberează (izo)tiocianați care reduc populațiile de agenți fitopatogeni și de nematozi și inhibă germinarea semințelor de buruieni. Compușii biofumiganți eliberați din crucifere elimină însă și antagoniștii de sol, inclusiv ciupercile antagoniste din genul *Trichoderma*. Pentru a asigura menținerea unei populații ridicate de antagoniști din genul *Trichoderma* în solurile supuse biofumigării ar fi utile tulpini antagoniste care să prezinte rezistență naturală la compușii biofumiganți eliberați din biomasa de crucifere.

Prezenta invenție descrie o tulpină de *Trichoderma pseudokoningii* Td85, care are un spectru larg de acțiune, inclusiv față de patogeni de sol (ciuperci din genurile



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI
Cerere de brevet de invenție
Nr. a 2010 01161
Data depozit 24-11-2010



Fusarium, *Sclerotium*, *Sclerotinia*) și producătoare de putregaiuri (*Botrytis*), prezintă capacitate ridicată de mineralizare a materialului vegetal cu eliberare de nutrienți și de compuși biologic activi, și are o rezistență naturală la compuși biofumiganți eliberați din biomasa de crucifere.

Tulpina Td85 de *Trichoderma pseudokoningii* prezintă următoarele avantaje:

- are o mare capacitate de colonizare și de degradare a unor substraturi vegetale, care adăugată proprietăților antagoniste față de diferiții agenți fitopatogeni, asigură reducerea inoculului primar dezvoltat pe resturile vegetale;
- îmbogățește solul datorită proceselor de mineralizare a materialului vegetal cu eliberare de nutrienți și de compuși biologic activi;
- rezistă la compușii biofumiganți eliberați în sol de biomasa de crucifere și asigură refacerea rapidă a populației de antagoniști din solurile astfel tratate.

În continuare se da un exemplu de realizare a invenției:

Tulpina Td85 de *Trichoderma pseudokoningii* (număr de depozit DSM 23661, DSMZ – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, Braunschweig – Germania) a fost izolată de pe semințe de grâu, zona Călărași. Pentru izolare s-a utilizat mediul de cultură apă-agar, iar pentru purificare mediul cartof, glucoză, agar.

Din punct de vedere morfolologic tulpina conform invenției este, se prezintă inițial sub forma de *colonii* cu miceliul hialin, iar mai târziu dezvoltă colonii albicioase-verzui cu zone conidiale grupate în smocuri cu umbre verzui. *Conidioforii* sunt ramificări piramidale, cu bifurcații scurte lângă apex; *Phialidele* sunt dispuse în grupuri de câte 3, mai puțin ascuțite și mai mult curbate; *Conidiile* au forme elipsoidale, 4,0–5,0 (–6,0) × 2,5 – 3,0 μm în diametru, cu marginile aspre; *Clamidosporii* sunt prezenți în miceliul culturilor mature, intercalați sau uneori terminali, majoritatea fiind globulosi, hialini, cu marginile netede.

Caracteristicile fiziologice, de utilizare a diferitelor substraturi, sunt descrise în cele ce urmează.

Surse de carbon: *optime*: manita, fructoză, riboză, glucoză (dextroză), galactoză, manoză; *dezvoltare fungală moderată* pe: arabinoză, sorboză, melibioză, maltoză, lactoză, celobioză, celuloză, amidon, inulină; *dezvoltare fungală slabă* pe: sorbitol, xiloză, zaharoză (sucroză), glicerol;

Surse de azot: *optime*: DL-leucina, L-cystina, DL-citrulina, DL-nor-leucină, azotatul de amoniu, tartratul de amoniu; *dezvoltare fungală moderată* pe: L-arginină, L-leucină, glicocol, asparagină, riboflavină, sulfat de amoniu, carbonat de amoniu, fosfat monobazic; *dezvoltare fungală slabă* pe: triptofan, tirozină, D-serină, lizină, uree, azotați de sodiu, calciu și potasiu;



Caracteristici fizice de creștere și sporulare sunt:

Temperatura: *temperatura optimă*: 20-25°C; *temperatura minimă*: 2°C; *temperatură maximă*: 37°C;

Reacția substratului de cultură: *pH optim*: 4.0-5.5; dezvoltare slabă a ciupercii la valori de pH de la 9,0 la 13,0.

Identificarea s-a realizat pe criterii morfologice, fiind confirmată de analiza moleculară a ITS1 (internal transcribed spacers 1) a clusterului pentru gena rRNA (marker universal fungal BarCode, <http://www.isth.info>). S-au folosit primerii specifici ITS1 SR6R f și LR1 r (conform protocol BarCode <http://www.isth.info/methods>). Secvențierea nucleotidică a fost realizată cu metoda *Dye Terminator Cycle Sequencing* (Perkin Elmer, 1998), folosind un secvențiator automat de tip ABI PRISM 310 (Perkin Elmer). Secvențele au fost analizate folosind programul CHROMAS 2.33 (Technelysium Pty Ltd). Compararea secvențelor s-a realizat cu programul TrichoBlast (<http://www.isth.info/tools/blast/index.php>). Similaritatea tulpinii Td85 a fost de 99,4% cu tulpina DAOM 167678 de *Trichoderma pseudokoningii* (descrisă de Hoyos-Carvajal et al., 2009, Fungal Genet. Biol. 46: 615-631). Incadrarea taxonomică în specia *T. pseudokoningii* a fost confirmată de Autoritatea de Depozit Internațional).

Gradul de antagonism al tulpinii de *Trichoderma pseudokoningii* Td85 față de ciupercile fitopatogene: *Botrytis cinerea*, *Fusarium graminearum*, *Sclerotinia sclerotiorum* și *Sclerotium bataticola* s-a evidențiat prin metoda culturilor duble (Jouan și colab., 1964). Aprecierea gradului de antagonism a fost realizată prin calcularea coeficientului matematic x. Agenții microbiologici de daunare au fost cultivați timp de 8 zile, pe mediul CGA în plăci Petri, astfel încât în momentul testării, miceliul să fie dezvoltat sub formă de plajă uniformă. Tulpina de *Trichoderma pseudokoningii* Td85 (DSM 23661) provenită dintr-o cultură în vârstă de 6 zile, a fost însămânțată pe mediul CGA, prin plasarea unei runde cu spori de 0,5 mm. În aceeași zi au fost însămânțate tulpinile de *Botrytis*, *Fusarium*, *Sclerotinis* și *Sclerotium*, prin amplasarea pe mediu a unei runde de miceliu (5 mm), la o distanță de 3 cm de ciuperca test. Plăcile Petri, astfel însămânțate au fost incubate la 25°C. S-au făcut observații asupra fenomenului de inhibare a creșterii, prin măsurarea zonei clare, la 4 și 8 zile.

Din analiza rezultatelor experimentale obținute *in vitro* (tabelul 1), se constată că tulpina de *Trichoderma pseudokoningii* Td85 (DSMZ 23661), prezintă antagonism față de tulpinile de *Botrytis cinerea*, *Fusarium graminearum*, *Sclerotinia sclerotiorum* și *Sclerotium bataticola*. Tulpina de ciuperca antagonista Td85 manifestă cel mai puternic antagonism ($x = 0,1 - 0,1$) chiar și după 8 zile față de tulpina de *Fusarium graminearum* izolată de pe semințe de graș.



Tab. 1. Relații in vitro dintre tulpina antagonista *Saccharomyces cerevisiae* și agenți microbiologici de daunare din genul *Botrytis*, *Fusarium*, *Sclerotinia* și *Sclerotium*.

Agenti microbiologici de daunare	x / 4 zile	x / 8 zile	Comportare
<i>Botrytis cinerea</i>	0,2	0,3	Puternic antagonist (PA)
<i>Fusarium graminearum</i>	0,1	0,1	Puternic antagonist (PA)
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	0,1	0,2	Puternic antagonist (PA)
<i>Sclerotium bataticola</i>	0,3	0,4	Puternic antagonist (PA)

Legenda:

X > 1 antagonism absent, izolat neantagonist (N)

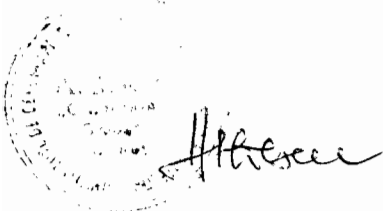
X < 1 antagonism (A) cu atât mai puternic (PA) cu cât valorile sunt mai apropiate de valoarea 0

X = 1 absența influențelor reciproce, indiferent (I)

Tulpina Td85 a fost testată în condiții de sera în ceea ce privește eficacitatea în combaterea ciupercilor fitopatogene de sol (*Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum* și *Sclerotium bataticola* sau *Macrophomina phaseolina*), care atacă frecvent în stadiul de plantulă plantele de cultură și produc pagube.

Operațiunile implicate au constat în pregătirea inoculului bacterian prin înprospătarea în eprubete (incubate la 27°C timp de 2-3 zile) pe mediul cartof-glucoza-agar (CGA) și realizarea suspensiilor bacteriene în tampon fosfat cu titrul de 10⁸ ufc/ml. Inoculul fungic s-a obținut în plăci Roux, pe mediul natural alcătuit din boabe de ovăz dublu sterilizate la 1 atm. timp de 20 minute, prin inocularea cu miceliu și incubarea la 27°C timp de 3-4 zile. Substratul utilizat în sera a constat din 1/2 pământ de grădină + 1/4 mranită + 1/4 nisip. Acesta a fost amestecat uniform cu inoculul fungic (~ 2 x 10⁶ spori/kg sol) și apoi distribuit în tăvi din plastic (32/24 cm) cu 48 ore înainte de semănat.

Materialul vegetal (semințe de fasole, cv. Lizica), a fost tratat înainte de semănat prin imersie, timp de 20 minute, în suspensiile microbiene al căror titru a fost stabilit la 10⁸ ufc/ml (bacterii) și 10⁶ spori/ml (ciuperci microscopice). A fost testată tulpina Td85 împreună cu următoarele tulpini de microorganisme antagoniste: 56.1s; Usa₂, 77.3, Bs 36, Bs 48, Td67. Inocul de fitopatogen aplicat la solul pe care s-a cultivat fasole a constat în complexul RFP = *R. solani* + *F. oxysporum* + *P. de baryanum*; S.s. = *S. sclerotiorum*; M.p. = *Macrophomina phaseolicola*.



Tab. 2. Eficacitatea tulpinilor de microorganisme antagoniste în combaterea unor ciuperci telurice fitopatogene la cultura de fasole (cv. Lizica).

Inocul fungic*	R.F.P.		S. s.		M.p.	
	% plante sănătoase răsărite	Eficacitatea (%)	% plante sănătoase răsărite	Eficacitatea (%)	% plante sănătoase răsărite	Eficacitatea (%)
77.3	60	27	87	74	80	57
Td67	58	24	70	40	87	72
Usa ₂	98	96	100	100	90	79
Bs 36	72	49	78	56	73	43
56.1s	92	87	93	88	95	89
Bs 48	79	62	82	64	85	68
Td85	95	89	98	96	89	78
Tiradin 70 PU (4g/kg)	93	87	98	96	90	79
Mt. Netratat	45	-	50	-	53	

* RFP = *R. solani* + *F. oxysporum* + *P. de baryanum*; S.s. = *S. sclerotiorum*; M.p. = *Macrophomina phaseolicola*.

Calculul eficacității (%) tratamentelor cu microorganisme antagoniste la sămânța de fasole (cv. Lizica), a reflectat următoarele:

➤ În variantele infectate cu complexul R.F.P. și cu *S. sclerotiorum* cea mai mare eficacitate (> 80%) s-a înregistrat în variantele tratate cu tulpinile Td85 și Usa₂. În variantele infectate cu *Macrophomina phaseolicola* cea mai mare eficacitate a rezultat în cazul utilizării tulpinilor 56/1s (89%) și Td85 (78%).

➤ Tratamentul semințelor cu Td85 a determinat obținerea unei eficacități mai mari (89%) în varianta infectată cu complexul ciupercilor fitopatogene de sol R.F.P. decât cea obținută în varianta tratată cu Tiradin (87%).

Concluzia preliminară a acestor studii de verificare a activității antagoniste in vivo este că tulpina Td85 este activă și *in vivo* față de agenții fitopatogeni de sol.

Pentru determinarea capacității de mineralizare a substratului vegetal au fost testate 73 tulpini de *Trichoderma*: Td67 și Td85 izolate din Bărăganul de Sud și Tm, izolat din Oltenia de Sud. Probele au fost analizate comparativ cu doi martori respectiv, martor fără inocul bacterian și martor în care bacteria a fost cultivată în mediu uzual de creștere (decoct de cartof- glucoză). Martorul negativ conferă informații în timp real, referitoare la comportamentul unor probe ideale, fără activitate biologică de degradare a substratului vegetal, în condițiile de desfășurare a testului. În această variantă,

substratul vegetal nu a fost inoculat cu microorganisme și a fost menținut în condiții identice de incubare cu cele ale probelor test. Acesta oferă informații referitoare la cantitatea maximă de oxigen care ar putea fi regăsită în probe fără activitate de biodegradare. Martorul pozitiv oferă informații cu privire la capacitatea de dezvoltare a tulpinii analizate, în condițiile unei cultivări pe mediu uzual de creștere. Acest mediu permite multiplicarea microorganismului datorită unei hrăniri corespunzătoare și în condițiile de incubare oferite pe parcursul desfășurării testului.

Rezultatele sunt prezentate în tab. 3. Aceste rezultate demonstrează o activitate de mineralizare a materialului vegetal foarte ridicată pentru tulpina Td85.

Tab. 3. Activitatea de degradare a materialului vegetal de către tulpinile de microorganisme testate*.

Tulpina	Respirație (mg/l O ₂ consumați, medie orară)	Conținut de carbon organic total în supernatant (mcg/l)	Glucide solubile (mcg/l)	Fosfor solubil (mcg/l)
Td67	1,58±0,28b	3,87± 1,72b	12,24±0,28	17,87± 3,23b
Td85	2,24±0,14a	7,54±1,25a	27,64±0,81a	36,44±4,07a
Tm	1,87±0,16ab	5,24±2,85ab	16,72±0,74b	15,42±2,23b

*valorile urmate de aceeași literă nu diferă semnificativ pentru P>0,05.

Pentru a se stabili rezistența la compușii biofumiganți eliberați din biomasa de crucifere s-a realizat un experiment de biotestare *in vitro*, utilizând tehnica de inhibare prin compuși volatili. S-a folosit cele trei tulpini de *Trichoderma*, Td67, Td85 și Tm. Ciupercile test au fost cultivate pe mediu CGA, în plăci Petri cu diametrul de 8 mm, care au fost incubate la 22°C timp de 72 ore în scopul obținerii unei creșteri sub formă de plajă pentru a permite calibrarea miceliului fungic. Ciuperca test a fost însămânțată prin amplasarea pe mediul CGA a unei ronderle calibrate de miceliu (5 mm diametrul) în centrul unei plăci Petri cu diametrul de 12 mm. Placa Petri a fost apoi introdusă într-un exicator de sticlă cu volumul de 0,7 litri și diametrul de 150 mm împreună cu o sticlă de ceas pe care s-a depus 5 g din amestecul 1:1 șroturi de rapiță : tulpini de rapiță tocate, umectat cu 2 ml de apă. Toate manipulările s-au făcut la nișa cu flux laminar, în condiții de axenicitate. S-au efectuat notări în ceea ce privește dimensiunea zonei de inhibiție a creșterii ciupercii după 48 ore de la însămânțare.

Fiecare ciupercă fost testată de cinci ori, iar media celor cinci repetiții a fost utilizată în calculele de analiza varianței. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 4. Tulpina Td85 prezintă o ridicată rezistență naturală la compușii biofumiganți eliberați din biomasa de crucifere.



Tab. 4. Rezistența la compușii biofumiganți eliberați din biomasa de crucifere .

Tulpina	Zona de inhibiție (mm)
Td67	0,3
Td85	2,7
Tm	2,2
DL _{5%}	0,2

S-a testat și eficacitatea în condiții de câmp. A fost amplasat un experiment la ICDPP București, pe un preluvosol roșcat, cu un conținut de humus de 2.2-2.4%, pH în apă 6,8, conținut de argilă de 28%. La sfârșitul lunii septembrie s-a însămânțat o cultură de rapiță de toamnă, pe un teren arat și discuit, la o adâncime de 7...8 cm și la o densitate de 50...55 semințe germinabile/m², corespunzând unei cantități de 3,5 ... 3,7 kg sămânță/ha. După cultura de rapiță de toamnă s-a amplasat cultura de soia, cu următoarele variante:

V1 - martor intensiv, aratură cultură verde și erbicidat pre-emergent / înainte de răsărire și post-emergent;

V2 – rapiță mulcită prin tocare; erbicidat post-mergent;

V3 – mulci bioactiv, rapiță mulcită prin tocare, erbicidat post-mergent, tratament cu 2 l de suspensie de *Trichoderma pseudokoningii* Td85 peste 100 kg paie grâu;

Date tehnologice:

-Tocat rapiță	19 aprilie 2010;
-Arat – V1	19 aprilie 2010
Discuit + combinator	6 mai 2010
Semănat - soiul ISIDOR	9 mai 2010
Aplicat tratament tratament cu 2 l de suspensie de <i>Trichoderma pseudokoningii</i> Td85 peste 100 kg paie grâu.	10 mai
Erbicidare pre-emergentă, V1, 480 g/l clomazon, 1,5 litri	
-Răsărit	21 mai 2010;
Erbicidat - 40 g/l quisalofop - p tefuril- 1,5 l/ha+40 g/l imazamox. - 0,7 l/ha	14 iunie 2010
Început înflorit	3-5 iulie 2010
Irigat - 600 mc/ha V1, 300 mc/ha V2-V4	5 august 2010
Recoltat	22 septembrie 2010

Precipitațiile căzute în prima parte a perioadei de vegetație au fost în cantități excedentare (167,4 mm în mai și de 107 mm în iunie). Cantitățile de precipitații din perioada de consum maxim, din iulie (6,6 mm) și august (29,4 mm), au fost foarte mici, pe un fond de temperaturi ridicate, mai mari decât media multianuală cu 0,9-3,0°C. Din acest motiv s-a aplicat o udare de 600 mc/ha pe 5 august la V1, și pe jumătate la V2-V4, în perioada de umplere a semințelor.

Modificările unor însușiri morfologice și a ale principalelor elemente de productivitate sub influența diferitelor sisteme tehnologice au constituit obiectul unor determinări efectuate în vegetație și la recoltare. Rezultatele obținute dovedesc că diferitele sisteme tehnologice aplicate au avut influență puternică asupra creșterii și a unor însușiri morfologice la cultura soiei (tab. 5).

Vigoarea plantelor s-a diferențiat mult în perioada de înflorire. Pe o scară de la 1 la 9, la sistemul unde rapița a fost îngropată prin arătură vigoarea plantelor a fost de doar 7. La sistemul în care rapița a fost mulcită prin tocare și lăsată la suprafața solului, vigoarea a crescut la 7,5. La sistemul cu mulci bioactiv (tratament cu amestecate cu paie) plantele de soia au prezentat o vigoare sporită de 8,5

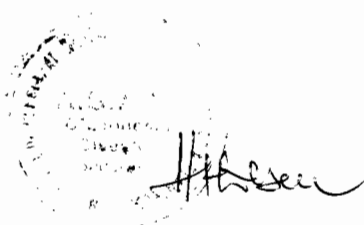
Înălțimea plantelor nu a fost influențată semnificativ, O diferențiere între sistemele de cultură, s-a realizat în ceea ce privește numărul de inserții cu păstăi și numărul de boabe în păstaie, elemente care au avut aceeași alură cu vigoarea plantelor.

Tab.5. Influența diferitelor sisteme tehnologice asupra creșterii și unor însușiri morfologice la cultura soiei.

Varianta	Vigoarea* medie a plantelor	Înălțimea plantei la recoltare (cm)	Număr de inserții cu păstăi/ plantă	Număr de boabe în păstaie.
Martor intensiv, arat	7	57,2	11,4	2,09
Rapiță mulcită prin tocare;	7,5	56,9	11,7	2,12
Mulci bioactiv (tratament <i>T. pseudokoningii</i> Td85 amestecate cu paie)	8,5	57,1	11,7	2,12

* la înflorire, 5 iulie, vigoarea – 1 - plante mici cu frunze mici; 9 - plante mari cu frunze robuste

În strânsă concordanță cu determinările menționate anterior cu privire la vigoare și numărul de boabe în păstaie sunt rezultatele de producție și masa medie a o mie de boabe (MMB) (tab.6). MMB reflectă cel mai bine aportul fiecărui sistem în realizarea producției de soia boabe. Producția obținută în varianta cu rapiță mulcită (101,9%) este



semnificativ pozitivă în comparație cu varianta clasică. Producțiile în variantele cu mulci bioactiv (*T. pseudokoningii* Td85 plus paie) sunt foarte semnificativ pozitive (112,5%) comparativ cu varianta intensivă. Superioritatea mulciului bioactiv se constată prin diferența semnificativ și foarte semnificativ pozitivă comparativ cu sistemul numai cu rapiță mulcită prin tocare.

Tab. 6. Influența diferitelor sisteme tehnologice asupra producției la cultura soiei

Varianta	Umiditate a la recoltare (%)	MMB (g)	Producția (kg/ ha) la 13% U	Producția relativă	
				%	%
Martor intensiv, arat	13,5	188	2635	100 Mt.	98.1 °
Rapiță mulcită prin tocare;	14,7	202	2685	101.9*	100 Mt.
Mulci bioactiv (tratament cu granule de <i>T. pseudokoningii</i> Td85 amestecate cu paie)	14,8	219	2965	112.5***	110.4 ***
			DL 5%	42 kg/ha	1.6%
			DL 1%	61 kg/ha	2.3%
			DL 0,1%	89 kg/ha	3.4%

În concluzie utilizarea tulpinii Td85 în condiții de câmp, împreună cu sistemele conservative care includ biofumigare prin tocare a culturilor de protecție de rapiță și acoperire cu mulci de paie a solului, determină sporuri semnificative de recoltă în condițiile reducerii cheltuielilor cu tratamentele de erbicidare a culturii.

TULPINA DE *TRICHODERMA PSEUDOKONINGII* DESTINATA SISTEMELOR DE
AGRICULTURA CONSERVATIVA

Revendicare

Tulpina *Trichoderma pseudokoningii* Td85, număr de depozit DSM 23661, caracterizată prin aceea că are un spectru larg de acțiune, inclusiv față de patogeni de sol din genurile *Fusarium*, *Sclerotium*, *Sclerotinia* și cei producători de putregaiuri, cum este de ex. *Botrytis*, prezintă capacitate ridicată de mineralizare a materialului vegetal cu eliberare de nutrienți și de compuși biologic activi, are o rezistență naturală ridicată la compuși biofumiganți eliberați din biomasa de crucifere și determină creșteri de producție la soia cultivată conservativ, prin aplicare pe mulciul din resturi vegetale din parcela cu soia, amplasată după o cultură verde, de rapiță de toamnă, cu care s-a realizat biofumigarea prin tocare și încorporare în sol.