



(11) RO 127471 B1

(51) Int.Cl.

C12N 1/14 (2006.01),
A01N 63/04 (2006.01),
C05F 11/08 (2006.01),
C12R 1/885 (2006.01)

(12)

BREVET DE INVENȚIE

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

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

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **27.02.2015** BOPI nr. **2/2015**

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

(73) Titular:

• 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.D 7, 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.G 3, SC.A, ET.2, AP.24,
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO

(56) Documente din stadiul tehnicii:
BG 110055 (A); LV 11999 (A)

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

Examinator: biochimist CREȚU ADINA



Orice persoană are dreptul să formuleze în scris și
motivat, la OSIM, o cerere de revocare a brevetului de
invenție, în termen de 6 luni de la publicarea mențiunii
hotărârii de acordare a acesteia

RO 127471 B1

Invenția se referă la o tulpină de *Trichoderma pseudokoningii*, destinată sistemelor de agricultură conservativă, care prezintă concomitent antagonism față de agenții fitopatogeni din sol, capacitate ridicată de mineralizare a materialului vegetal și rezistență la compușii biofumiganți, eliberați din biomasă de crucifere, fiind destinată, în special, sistemelor care utilizează proprietățile de biofumigare ale culturilor de crucifere.

Sunt cunoscute mai multe tulpieni de *Trichoderma*, cu acțiune de protecție a plantelor cultivate împotriva agenților fitopatogeni. **US 5266316 B1** descrie izolatul T-39 de *Trichoderma harzianum*, depozitat cu numărul I-952, la Collection Naționale 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*). **US 5422107 B1** prezintă tulpina SK-55 de *Trichoderma harzianum*, număr de depozit BP 4346 NIBH, destinată pentru tratamentul agenților fitopatogeni de sol. **US 7070984 B1** protejează tulpina *Trichoderma fungal* Li 49, depozitată la ATTC, cu numărul PTA-1225. Tulipina este cultivată aseptic 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 tratamentul împotriva agenților fitopatogeni din sol. **EP 1400586 B1** se referă la ciuperca antagonistă *Trichoderma asperellum* T34(2), depozitată CECT No 20147, care este activă, de asemenea, față de agenții fitopatogeni din sol. **BG 110055 A** prezintă o tulpină de *Trichoderma koningii* Oud., adecvată pentru producerea unui preparat biologic, utilizat pentru combaterea fungilor fitopatogeni din sol. Aceasta este izolată din sol și rizosfera de căpșuni, cu semne de putrezire a rădăcinilor. Tipul este stabilit în funcție de sistematica Rifai (1969), fiind găsită o coincidență completă între caracteristicile culturale și morfologice și cele ale tipului descris. Tulipina are proprietățile unui superparazit asupra fungilor fitopatogeni din genurile *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Botrytis*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Sclerotinia*, fără nicio manifestare de fitotoxicitate. Eficacitatea acesteia este confirmată de experimentele de producție de trei ani, cu roșii și castraveți, în condiții de seră. Tulipina este depusă, în conformitate cu cerințele Tratatului de la Budapesta, privind recunoașterea internațională la NBIMCC, cu nr. 9508/31.10.2006. **LV 11999 A** se referă la agenți biologici pentru protecția legumelor. A fost obținută o bază din noua tulpină *Trichoderma harzianum* B-21 (depozitată la Microorganism Culture Collection din Letonia, cu numărul P 309). Este un biofungicid activ inhibitor al creșterii pentru mai multe ciuperci fitopatogene (*Alternaria*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Microdochium*, *Ramularia*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*). Aceasta este folosită pentru a prepara biofungicidul trichodermin. Metoda de obținere a trichoderminului constă în cultivarea ciupercilor de bază, menționate mai sus, într-un mediu nutritiv, lichid.

Niciuna 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 util tulpini antagoniste care să prezinte rezistență naturală la compușii biofumiganți, eliberați din biomasa de crucifere.

Tulpina *Trichoderma pseudokoningii* Td85, număr de depozit DSM 23661, conform inventiei, are un spectru larg de acțiune, inclusiv față de patogenii de sol din genurile *Fusarium*, *Sclerotium*, *Sclerotinia* și cei producători de putregaiuri, cum este *Botrytis*, prezintă capacitate ridicată de mineralizare a materialului vegetal, cu eliberare de nutrienti 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.	1
Tulpina Td85 de <i>Trichoderma pseudokoningii</i> prezintă următoarele avantaje:	5
- are o mare capacitate de colonizare și de degradare a unor substraturi vegetale, care adăugată proprietăților antagoniste față de diferiți agenti fitopatogeni, asigură reducerea inoculului primar, dezvoltat pe resturile vegetale;	7
- îmbogățește solul, datorită proceselor de mineralizare a materialului vegetal, cu eliberare de nutrienti și de compuși biologic activi;	9
- rezistă la compușii biofumiganți, eliberați în sol de biomasa de crucifere, și asigură refacerea rapidă a populației de antagoniști din solurile astfel tratate.	11
Prezenta inventie descrie o tulipă de <i>Trichoderma pseudokoningii</i> Td85, care are un spectru larg de acțiune, inclusiv față de patogenii de sol (ciuperci din genurile <i>Fusarium</i> , <i>Sclerotium</i> , <i>Sclerotinia</i>) și producătoare de putregaiuri (<i>Botrytis</i>), prezintă capacitate ridicată de mineralizare a materialului vegetal, cu eliberare de nutrienti și de compuși biologic activi, și are o rezistență naturală la compușii biofumiganți, eliberați din biomasa de crucifere.	13
În continuare, se dă un exemplu de realizare a inventiei.	19
Exemplu. Tulpina Td85 de <i>Trichoderma pseudokoningii</i> (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 apa agar, iar pentru purificare, mediul cartof, glucoză, agar.	21
Din punct de vedere morofologic, tulipina conform inventiei se prezintă inițial sub formă de colonii cu miceliul hialin, iar mai târziu, dezvoltă colonii albicioase-verzui, cu zone conidiale grupate în smocuri cu umbre verzu. <i>Conidioforii</i> sunt ramificați piramidați, cu bifurcații scurte lângă apex; <i>Phialidele</i> sunt dispuse în grupuri de câte 3, mai puțin ascuțite și mai mult curbate; <i>Conidiile</i> au forme elipsoidale, 4,0...5,0 (-6,0) x 2,5...3,0 µm în diametru, cu marginile aspre; <i>Clamidosporii</i> sunt prezenti în miceliul culturilor mature, intercalati sau uneori terminali, majoritatea fiind globuloși, hialini, cu marginile netede.	23
Caracteristicile fiziologice, de utilizare a diferitelor substraturi, sunt descrise în cele ce urmează.	25
Surse de carbon: optime: manita, fructoza, riboza, glucoza (dextroza), galactoza, manoza; dezvoltare fungală moderată pe: arabinoză, sorboză, melibioză, maltoză, lactoză, celobioză, celuloză, amidon, inulină; dezvoltare fungală slabă pe: sorbitol, xiloză, zaharoză (sucroză), glicerol.	27
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 monobasic; dezvoltare fungală slabă pe: triptofan, tirozină, D-serină, lizină, uree, azotați de sodiu, calciu și potasiu;	29
Caracteristicile fizice de creștere și sporulare sunt următoarele:	31
- temperatură: temperatură optimă: 20...25°C; temperatură minimă: 2°C; temperatură maximă: 37°C;	33
- 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.	35
Identificarea s-a realizat pe criterii morfolactice, 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	41
	43
	45
	47
	49

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* (descrișă de Hoyos-Carvajal et al., 2009, *Fungal Genet. Biol.* 46: 615-631). Încadrarea 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. Agentii microbiologici de dăunare 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 vîrstă de 6 zile, a fost însămânțată pe mediul CGA, prin plasarea unei rondele cu spori de 0,5 mm. În aceeași zi, au fost însămânțate tulpinile de *Botrytis*, *Fusarium*, *Sclerotinia* și *Sclerotium*, prin amplasarea pe mediu a unei rondele de micelie (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 ciupercă antagonistă 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 grâu.

Tabelul 1

*Relații in vitro dintre tulpina antagonistă *Saccharomyces cerevisiae* și agenți microbiologici de dăunare din genul *Botrytis*, *Fusarium*, *Sclerotinia* și *Sclerotium**

Agenti microbiologici de dăunare	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 seră, 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 împrospătarea în eprubete (incubate la 27°C, timp de 2...3 zile) pe mediul cartof-glucoză-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,

temp de 20 min, prin inocularea cu miceliu și incubarea la 27°C, timp de 3...4 zile. Substratul utilizat în seră a constat din 1/2 pământ de grădină + 1/4 mraniță + 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 de ore înainte de semănat.

Materialul vegetal (seminte de fasole, cv. Lizica) a fost tratat înainte de semănat, prin imersie, temp de 20 min, în suspensiile microbiene, al căror titru a fost stabilit la 10⁸ UFC/ml (bacterii) și 10⁶ spori/ml (ciuperci microscopice). A fost testată tulipa Td85, împreună cu următoarele tulpieni 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*.

Tabelul 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.	
Varianta (cod izolat)	% 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 (4 g/kg)	93	87	98	96	90	79
Mt. Neatrata	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 sămânță 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 tulpieni Td85 și Usa2. În variantele infectate cu *Macrophomina phaseolicola*, cea mai mare eficacitate a rezultat în cazul utilizării tulpienilor 56/1 s (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 tulipa Td85 este activă și *in vivo* față de agentii fitopatogeni de sol.

Pentru determinarea capacității de mineralizare a substratului vegetal, au fost testate 73 tulpieni 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 (decocă 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

RO 127471 B1

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 tabelul 3. Aceste rezultate demonstrează o activitate de mineralizare a materialului vegetal foarte ridicată pentru tulipa Td85.

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

Tulpina	Respirație (mg/l O ₂ consumat, 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 următoare 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-au folosit cele trei tulpieni 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 h, în scopul obținerii unei creșteri sub formă de plajă, pentru a permite calibrarea miceliului fungic. Ciuperca test a fost însămânată prin amplasarea pe mediul CGA a unei rondele calibrate de micel (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 l și diametrul de 150 mm, împreună cu o sticlă de ceas, pe care s-a depus 5 g din amestecul 1:1 șproturi de rapiță : tulpieni de rapiță tocate, umectat cu 2 ml de apă. Toate manipulările s-au făcut la nișă cu flux laminar, în condiții de axenicitate. S-au efectuat notări în ceea ce privește dimensiunea zonei de inhibiție a creșterii ciupercii după 48 h de la însămânțare.

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

*Tabelul 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

RO 127471 B1

S-a testat și eficacitatea în condiții de camp. 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, arătură cultură verde și erbicidat preemergent/înainte de răsărire și postemergent;

V2 - rapiță mulcită prin tocăre; erbicidat postemergent;

V3 - mulci bioactiv, rapiță mulcită prin tocăre, erbicidat postemergent, tratament cu 2 l de suspensie de *Trichoderma pseudokoningii* Td85 peste 100 kg paie grâu.

Date tehnologice:	13
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 preemergentă, V1, 480 g/l clomazon, 1,5 l	19
Răsărit	21 mai 2010
Erbicidat - 40 g/l quisalofop - p tefuril- 1,5 l/ha+40 g/l	14 iunie 2010
Imazamox. - 0,7 l/ha	23
Inceput înflorit	3-5 iulie 2010
Irigat - 600 mc/ha V1, 300 mc/ha V2-V4	25
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 MIMA, în perioada de umplere a semințelor.

Modificările unor însușiri morfologice și 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 diferențele sisteme tehnologice aplicate au avut influență puternică asupra creșterii și a unor însușiri morfologice la cultura soiei (tabelul 5).

Vigoarea plantelor s-a diferențiat mult în perioada de înflorire. Pe o scară de la 1 la 9, la sistemul unde rapiță a fost îngropată prin arătură, vigoarea plantelor a fost de doar 7. La sistemul în care rapiță a fost mulcită prin tocăre 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 păstăie, elemente care au avut aceeași alură cu vigoarea plantelor.

Tabelul 5

Influența diferitelor sisteme tehnologice asupra creșterii și unor însușiri morfologice la cultura de soia

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 tocăre	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) (tabelul 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 tocăre.

Tabelul 6

Influența diferitelor sisteme tehnologice asupra producției la cultura de soia

Varianta	Umiditatea 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 tocăre;	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 ***
		D L 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 tocarea 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.

RO 127471 B1

Revendicare

Tulpină de *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, din genul *Botrytis*, prezintă capacitate ridicată de mineralizare a materialului vegetal, cu eliberare de nutrienti 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.

1

3

5

7

9

11



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la: Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 89/2015