



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2015 00946**

(22) Data de depozit: **02/12/2015**

(41) Data publicării cererii:
30/06/2017 BOPI nr. **6/2017**

(71) Solicitant:
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
CHIMIE ȘI PETROCHIMIE - ICECHIM,
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.202,
SECTOR 6, 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;**

• **VELEA SANDA, STR.ZAMBILELOR NR.6,
BL.60, ET.2, AP.5, SECTOR 2, BUCUREȘTI,
B, RO;**
• **POPESCU MARIANA, STR. VALEA ROȘIE
NR. 6, BL. 62, SC. C, ET. 1, AP. 35,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **RĂUT IULIANA,
ALEEA BARAJUL BISTRIȚA NR.12, BL.4,
SC.1, ET.4, AP.54, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO**

(54) **PROCEDEU DE CONDIȚIONARE A MICROORGANISMELOR
BIOSTIMULANTE PENTRU PLANTE SUB FORMĂ
DE TABLETĂ EFERVESCENTĂ**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de condiționare a microorganismelor biostimulante pentru plante sub formă de tablete efervescente, utilizate în tratamentul plantelor. Procedeu conform invenției constă în cultivarea axenică a microorganismelor pe medii minimale lichide, care includ 2% dioxid de siliciu coloidal, cu varierea temperaturii de incubare cu un interval de 10°C, timp de 3...5 zile, recoltarea și uscarea biomasei de microorganisme și a siliciului coloidal, omogenizarea

a 9...11 părți biomasă cu bicarbonat de sodiu, acid alginic, acid tartric, alcool polivinilic, croscarmeloză, celuloză microcristalină, granularea umedă a amestecului cu soluție alcoolică de lecitină, urmată de uscarea în pat fluidizat și comprimarea granulelor într-o matrită cu formarea unor tablete efervescente.

Revendicări: 3

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



30

| |
|--|
| OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI |
| Cerere de brevet de invenție |
| Nr. a. 2015.00946 |
| Data depozit ... 02-12-2015 ... |

PROCEDEU DE CONDIȚIONARE A MICROORGANISMELOR BIOSTIMULANTE PENTRU PLANTE SUB FORMĂ DE TABLETĂ EFERVESCENTĂ

Prezenta invenție se referă la un procedeu de condiționare a microorganismelor benefice pentru plante, în special a celor care au o acțiune de biostimulare a plantelor, sub formă de tabletă efervescentă, destinată tratamentelor prin pulverizare, în cadrul tehnologiilor de cultură a plantelor, și în special tratamentului resturilor vegetale în sistemele de agricultură conservativă.

Sunt cunoscute diferite procedee de condiționare sub formă de tabletă, a microorganismelor utilizate ca ingredient activ în diferitele tipuri de inputuri pentru tehnologiile de cultivare a plantelor. Cererea de brevet WO2009093261 A2 se referă la un biopesticid, realizat pe baza uneia sau a mai multor ciuperci microscopice entomopatogene, care se prezintă sub formă unor tablete puternic comprimate. Ciupercile entomopatogene sunt selectate din grupul reprezentat de genurile *Beauveria*, *Metarhizium*, *Paecilomyces*, *Verticillium* și *Nomuraea*, iar tabletele conțin conidiile unuia sau mai multor ciuperci microscopice entomopatogene, protectanți UV, agenți anti-saprofitici, desicanți, lubricanți, agenți de legare, dezintegranți și diluanți.

Brevetul EP0929215 B1 revendică utilizarea masei de reziduu celular, rămasă după extragerea din boabele de soia a uleiului și a proteinelor, ca bio-purtător pentru realizarea unor tablete efervescente cu microorganisme utile (exemplificat prin *Lagenidium*, o oomicetă entomopatogenă). Una din compozițiile de realizare a brevetului este constituită din 60 părți masă de reziduu celular de soia, 30 părți (biomasă de) *Lagenidium*, 5 părți pirofosfat acid de sodiu, 5 părți bicarbonat de sodiu. Biomasă de *Lagenidium* este încorporată în materialul bio-purtător (masă de reziduu celular de soia), uscată, amestecată cu sistemul efervescent pirofosfat / bicarbonat și apoi tabletată. Masa de reziduu celular de soia are bune caracteristici de compresibilitate, dar include o serie întreagă de hidrocoloizi care complică procesul de producție și ulterior stocarea, distribuția și utilizarea. Hidrocoloizii din bio-purtător (celuloză, pectină, alte fibre vegetale hidrofili) mențin / rețin o umiditate ridicată în substratul de tabletat, care prezintă riscul de a declanșa reacția de efervescentă în timpul procesării și accentuează cunoscuta higroscopicitate / deliquescentă a sistemelor efervescente (Newman et al. 2008, *Journal of*

Pharmaceutical Sciences, 97: 1047-1059). Ulterior, la aplicare, hidrocoloizii reduc rata de dizolvare, inclusiv datorită durității crescute a apei folosite uzual pentru tratamentele în agricultură (care este de obicei apă de fântână, motiv pentru care testele produselor utilizate în agricultură pentru stropiri / pulverizări se fac cu apă dură standard). Termenul de „hidrocoloid” este folosit aici ca definiție a compușilor, în general carbohidrați hidrofili cu masă moleculară mare, organizați în structuri supramoleculare, care au o mare afinitate pentru apă și o rețin la suprafață, împiedicând umectarea / hidratarea întregii (supra)structuri moleculare și dizolvarea rapidă / formarea soluțiilor coloidale.

Brevetul CN1254181 C descrie un comprimat efervescent care include *Bacillus thuringiensis* (Bt), care include agenți de umectare, un sistem efervescent și lianți, Componentele includ pulbere provenită prin uscarea biomasei de *B. thuringiensis*, lignosulfonat de sodiu, acid stearic, acid salicilic (2-hidroxi-benzoic), bicarbonat de sodiu și amidon. Invenția reduce contaminarea, datorită efectului bacteriostatic al acidului salicilic, elimină măsurile uzuale de protecție împotriva absorbției umidității atmosferice datorită reducerii delicvescenței sistemului efervescent și simplifică aplicarea.

Avantajul tabletelor este ușurința respectării dozelor recomandate, dar dezavantajul comun este dat de rata de supraviețuire redusă a microorganismelor la condiționarea prin tabletare, care implică pentru microorganisme atât stresul uscării, cât și cel al comprimării. În cazul tabletelor efervescente, la aceste stresuri combinate, se mai adaugă și cel al unui pH micro-zonal cu variabilitate mare, datorat omogenizării unui (bi)carbonat bazic cu un acid. Din acest motiv se utilizează cu precădere pentru astfel de formulări microorganisme care au forme de răspândire (endosporii ai bacteriilor gram pozitive, conidii ale ciupercilor microscopice) cu rezistență crescută la factorii adversi de mediu, inclusiv la uscare.

Pentru a crește rata de supraviețuire a microorganismelor înglobate în tablete a fost propusă utilizarea unor compuși cu rol protectiv. Cererea de brevet WO 2005060937 A1 dezvăluie realizarea unor tablete cu microorganisme active probiotice viabile (bacterii gram-negative, sub formă vegetativă) cu o compoziție de agenți stabilizanți, care includ o combinație de 1) un antioxidant, 2) un agent de umplere și 3) un agent de gelatinizare.

Aplicarea în mediu de condiționare a microorganismelor a unor compoziții stabilizante crește rata de supraviețuire, dar nu într-o măsură suficientă. Sunt

necesare procedee prin care să se stimuleze sistemele interne de protecție ale microorganismelor, pentru a crește rezistența lor intrinsecă la condiționarea ulterioară sub formă de tabletă (efervescentă), în care microorganismele sunt supuse atât stresului uscării, cât și a celui rezultat din comprimarea cu forțe mari.

Autorii au stabilit că acidul ortosilicic, cunoscut ca fiind un biostimulant care crește rezistența plantelor la stresurile biotice și abiotice (Savvas și Ntatsi, 2015 *Scientia Horticulturae*, 19: 66–81) și ca având un efect de stimulare a creșterii microorganismelor (Wainwright et al. 1997, *Mycological Research*, 101: 933-938), are și un efect de stimulare a sistemelor interne de protecție a microorganismelor față de factorii adversi de mediu.

Acidul ortosilicic este un acid foarte slab, cu patru funcțiuni acide, la care valoarea pKa cea mai mică este de 9,8 (Iler, *The Chemistry of Silica*, John Wiley & Sons, New York, 1979, pg. 207). Aceasta înseamnă că la pH 9,8 acidul ortosilicic este prezent 50% în stare nedisociată și 50% în stare disociată. Intre valorile de pH 2 și 8 acidul ortosilicic este o moleculă neutră, complet nedisociată. La concentrații mai mari de 2 mM începe să polimerizeze, prin reacții de policondensare, cu eliberare de apă (McIntosh, 2012, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 14: 996-1013). Datorită acestei tendințe de policondensare acidul ortosilicic nu poate fi inclus în mediile de cultură ale microorganismelor în concentrații mari, ci trebuie să fie eliberat constant în concentrații mici, biologic active, din compuși precursori. Biomasa rezultată trebuie să fie apoi ușor de condiționat în formule de tablete efervescente, cu asigurarea unei supraviețuiri ridicate a microorganismelor.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este de a descrie un procedeu, ușor de realizat, de condiționare a microorganismelor benefice plantelor, în special a celor cu activitate de biostimulare a plantelor de cultură, sub formă de tabletă efervescentă, prin care să se asigure o rată ridicată de supraviețuire a microorganismelor și o producere și utilizare simplificată a tabletei efervescente astfel obținute.

Este un alt obiect al acestei invenții de a descrie un procedeu de obținere a biomasei de microorganismelor cu rezistență mare la condiționare prin comprimare în structuri efervescente, prin cultivarea pe medii în care sunt eliberate constant concentrații mici, active biologic, de acid ortosilicic.

Procedeul conform invenției constă în următoarele etape:

- Cultivarea axenică pe medii minimale lichide, care includ 2% dioxid de siliciu coloidal, la pH optim și la aerări de până la 50% saturație de oxigen, cu varierea temperaturii de incubare cu un interval de 10°C, 12 ore la 20°C și 12 ore la 30°C, timp de 3-5 zile;
- Recoltarea biomasei de microorganisme și a dioxidului de siliciu coloidal rezidual prin filtrare sub vacuum de min. -0,5 bar;
- Uscarea biomasei de microorganisme și a siliciului coloidal, recoltate prin filtrare, până la max. 5% umiditate reziduală;
- Omogenizarea a 9-11 părți biomasă de microorganisme și siliciu coloidal, cu 14,2 -14,7 părți bicarbonat de sodiu, 4,5-4,9 părți acid alginic, 4,3-4,5 părți acid tartric, 2,2-2,4 părți alcool polivinilic, 3 părți croscarmeloză, 59,4-61,9 părți celuloză microcristalină, părțile fiind exprimate în unități de masă;
- Granularea umedă a compoziției de mai sus cu 15 părți de soluție alcoolică, care conțin 0,7 părți lecitină modificată, cu o balanță hidrofil - lipofilă HLB mai mare de 8, urmată de uscarea în pat fluidizat, la o temperatură de max. 40°C, până la o umiditate reziduală de max. 2%;
- Comprimarea granulelor la 60 MPa, într-o matrită cu diametru de 1,3 cm, cu formarea unor tablete efervescente de 1 g.

Procedeul favorizează eliberarea controlată, în etapa de cultivare axenică pe medii minimale lichide, de acid ortosilicic în concentrații care sunt sub 1 mM.

Uscarea biomasei de microorganisme și a siliciului coloidal se face prin pulverizarea unei suspensii normalizate la 10% substanță uscată, în condiții blânde, la 130-140°C temperatură de intrare și 75-80°C temperatură de ieșire, atunci când microorganismele cultivate sunt bacterii gram pozitive, care formează endo-spori sau ciuperci microscopice care formează conidii, și prin liofilizare, prin creșterea graduală a temperaturii de la -25°C la 25°C, la 0,9 mbar presiune, timp de 48 ore, atunci când microorganismele sunt bacterii gram-negative.

Prezenta invenție prezintă următoarele avantaje:

- Asigură eliberarea constantă a unor concentrații mici, biologic active, de acid ortosilicic din dioxidul de siliciu coloidal, datorită cultivării microorganismelor pe mediu minimal, care stimulează producerea de către microorganisme a biocompușilor implicați în solubilizarea acidului ortosilicic;
- Determină o rată de supraviețuire avansată a microorganismelor, care sunt cultivate în condiții care să favorizeze exprimarea mecanismelor interne de rezistență

la factorii externi, datorită efectului protector al acidului silicic, combinat cu șocurile de temperatură;

- Nu necesită condiții speciale de reducere a umidității la tabletare și, ulterior, la depozitare și transport, datorită higroscopicității reduse a sistemului efervescent, care include acid alginic, și capacității ridicate de reținere a apei de către dioxidul de siliciu aflat în proporție mare;

- Formează o compoziție care are o umectabilitate ameliorată, sub acțiunea lecitinei și a stearatului; cu o capacitate ridicată de autosuspendare în apă datorită sistemului efervescent, care este apoi menținută de agenții de suspendare pe care-i conține, alcool polivinilic, sau care se formează la dizolvare, alginatul de sodiu și citratul de sodiu; cu o spumare redusă, datorită creșterii semnificative a vâscozității sub acțiunea combinată a alginatului de sodiu și a alcoolului polivinilic; are o bună fixare de suprafață materialului vegetal după aplicare, sub acțiunea aderentă conjugată a alcoolului polivinilic și a alginatului de sodiu și formează pelicule pe suprafața resturilor vegetale pe care se aplică, în care apa este reținută de macromoleculele cu caracter hidrofil ridicat.

În continuare se prezintă exemple de realizare care ilustrează invenția fără a o limita.

Exemplu 1. Într-un bioreactor (Biostat® B, Goettingen, Germania), prevăzut cu senzor de pH și senzor de oxigen dizolvat (DO) (InPro6800; Mettler-Toledo AG, Greifensee, Elveția), prevăzut cu un vas de 5 litri, se aduc 2 litri mediu minimal M9 care conține la 1 litru: Na₂HPO₄ (anhidru) 6 g; KH₂PO₄ 3 g; NaCl 0.5 g; NH₄Cl 1 g, 10 g lactoză. Se suspendă în mediul rezultat 40 g de dioxid de siliciu coloidal, 270 și 330 m²/g, un conținut de bioxid de siliciu de min. 98% și generează suspensii cu un pH de 5,5.. Mediul rezultat se sterilizează prin autoclavare in-situ, și apoi se adaugă nouă microelemente, în următoarele concentrații finale: MgSO₄ 1 mM; CaCl₂ 0,1 mM; (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O 3x10⁻⁹ M; H₃BO₃ 4x10⁻⁷ M; CoCl₂·6 H₂O 3x10⁻⁸ M; CuSO₄·5H₂O 1x10⁻⁸ M; MnCl₂·4H₂O 8x10⁻⁸ M; ZnSO₄·7H₂O 1x10⁻⁸ M; FeSO₄·7H₂O 1x10⁻⁶ M, provenite din soluții stoc sterilizate prin ultrafiltrare. Se verifică pH-ul și se aduce la pH 5,5 cu HCl 1 M sau NaOH 1 M.

Toți reactivi folosiți sunt proveniți de la Merck-Millipore, Darmstadt, Germania, cu excepția dioxidului de siliciu coloidal, care este Aerosil® 300 Pharma (Evonik Resource Efficiency, Hanau-Wolfgang, Germania). Orice alți reactivi care au aceleași caracteristici tehnice pot fi utilizați.

Mediul se inoculează cu 100 ml de suspensie de conidii de *Trichoderma asperellum* Td36b, NCAIM P(F) 001434, normalizate la 10^8 propagule per ml prin numărare la lamela citometrică. Tulpina *T. asperellum* Td36b este cunoscută ca având efect de biostimulare a plantelor de cultură (Raut et al. 2015. Journal of Biotechnology, 208, S62). Se cultivă tulpina Td36b timp de 5 zile, la o rată de aerare de până la 50% saturație de oxigen, cu varierea temperaturii de incubare cu un interval de 10°C, 12 ore la 20°C și 12 ore la 30°C.

Din oră în oră se prelevează aseptice probe de 2- 2,4 ml mediu de cultură cu microorganisme, în vase din HDPE (Nalgene, Thermo Scientific, Waltham, MA, SUA). Se separă prin centrifugare supernatantul, de sedimentul microbial și de gelul de silice, și se preiau probe de câte 1 ml de supernatant, care este diluat cu 4 ml apă ultrapură, în tuburi Eppendorf conice de 15 ml (Eppendorf, Hamburg, Germania). Conținutul de acid ortosilicic liber este determinat cu un kit Merck (Merck Silicate Assay, 1.14794, Merck-Millipore). Acest test colorimetric este bazat pe reacția dintre silicat și ionii molidat, pentru a forma un complex colorat de silicomolidat albastru, care poate fi detectat spectrofotometric la 810 nm. Concentrația absolută de acid silicic este calculată după construcția unei curbe de calibrare, folosind un standard de siliciu (Merck 170236, Merck-Millipore). În mediu de cultură se determină o concentrație de acid ortosilicic care este permanent de sub 1 mM, fiind consecința a două procese concomitente – solubilizarea siliciului sub efectul metabolismului microbial și asimilarea acidului ortosilicic. În sedimentul de microorganisme se determină siliciul total, după mineralizare, prin ICP-OES (Georgiadis et al. 2013, Geoderma, 209: 251-261). Se constată o continuă creștere a conținutului de siliciu în biomasa de microorganisme, creștere care dovedește asimilarea acidului ortosilicic de către microorganisme.

După terminarea perioadei de cultivare se recoltează biomasa de microorganisme și dioxidul de siliciu coloidal rezidual prin filtrare sub vacuum de min. -0,5 bar, folosind o unitate Sartolab® (Sartorius, Goettingen, Germania). Gelul rezultat prin filtrare este resuspendat în apă pură miliQ (produsă într-un aparat Milli-Q® Integral, Merck-Millipore). Suspensia rezultată se usucă până la max. 5% umiditate reziduală, pe o instalație de uscare prin pulverizare cu disc atomizor și cu aer încălzit ca agent de uscare, la o turație de cel puțin 20,000 rpm a discului atomizor, la o temperatură de intrare a agentului de uscare de 130-140°C și la o temperatură de ieșire a agentului de uscare de 75...80°C. O instalație de uscare prin pulverizare care poate fi utilizată în acest scop este de exemplu Niro Production

Minor Unit, produsă de Niro Gea (Soeborg, Danemarca) sau Laboratory spray dryer, produsă de ICF Cibec (Maranello, Italia). Orice alt tip de instalație de uscare prin pulverizare, cu caracteristici tehnici similare, poate fi utilizată.

Se iau 10 părți biomasă de microorganisme și siliciu coloidal uscate, care se aduc într-un granulador în pat fluidizat (MiniGlatt, Glatt, Binzen, Germania), împreună cu 14,7 părți bicarbonat de sodiu, 4,9 părți acid alginic, 4,5 părți acid tartric, 2,2 părți alcool polivinilic, 3 părți croscarmeloză, 60 părți celuloză microcristalină, părțile fiind exprimate în unități de masă.

Se granulează compoziția de mai sus cu 15 părți de soluție alcoolică, care conțin 0,7 părți lecitină modificată, cu o balanță hidrofil - lipofilă HLB mai mare de 8, urmată de uscarea în pat fluidizat, la o temperatură de max. 40°C, până la o umiditate reziduală de max. 2%.

Lecitina folosită este Thermolec® WFC, Archer Daniels Midland (Decatur, IL, SUA), dar orice altă lecitină modificată cu caracteristicile de mai sus poate fi utilizată.

Amestecul rezultat este comprimat la o presiune de comprimare de 60 MPa, într-o matriță cu diametru de 1,3 cm, cu formarea unor tablete efervescente de 1 g. XP 1, pe o mașină de tabletat XP 1, Korsch, (Berlin, Germania). Orice altă presă de tabletat, care asigură condiții similare de tabletat poate fi utilizată.

Tableta rezultată este stabilă, cu o rezistență la rupere de circa 7 kP, și se dezintegrează în apă dură standard în mai puțin de 3 minute.

La sfârșitul procedurii de obținere se analizează conținutul de propagule de *Trichoderma* prin cultivare pe medii selective. Acest conținut este de minim 5×10^7 ufc/g, și nu scade cu mai mult de 10% prin stocarea tabletelor la temperatura camerei timp de 6 luni.

Exemplu 2. Se procedează ca în Exemplu 1, cu următoarele diferențe. Se folosește glucoză ca sursă de carbon și energie în mediul minimal, se utilizează tulpina *Brevibacillus parabravis* B50, NCAIM (P) B 001413 (tulpină cunoscută ca fiind biostimulantă pentru plante (cerere de brevet RO RO128931), cultivarea se realizează timp de trei zile, iar etapa de omogenizare a biomasei de microorganisme și a siliciului coloidal uscate se realizează în următoarele proporții: 9 părți biomasă de microorganisme și siliciu coloidal uscate, cu 14,2 părți bicarbonat de sodiu, 4,5 părți acid alginic, 4,3 părți acid tartric, 2,4 părți alcool polivinilic, 3 părți croscarmeloză, 61,9 părți celuloză microcristalină, părțile fiind exprimate în unități de masă.

Tableta rezultată este stabilă, cu o rezistență la rupere de circa 7 kP, și se dezintegrează în apă dură standard în mai puțin de 3 minute.

La sfârșitul procedurii de obținere se analizează conținutul de propagule de *Brevibacillus* prin cultivare pe medii selective. Acest conținut este de minim 10^8 ufc/g, și nu scade cu mai mult de 10% prin stocarea tabletelor la temperatura camerei timp de 6 luni.

Exemplu 3. Se procedează ca în Exemplu 1, cu următoarele diferențe. Se folosește glucoză ca sursă de carbon și energie în mediul minimal. Se utilizează tulpina *Pseudoxanthomonas mexicana* P32, NCAIM (P) B 001414, (cunoscută ca fiind biostimulantă pentru plante, brevet EP2738267 B1), iar cultivarea se realizează timp de 3 zile. Uscarea se face prin liofilizare, pe un liofilizator Christ Alpha 1-2 LD (Martin Chist, Osterode am Harz, Germania), prin creșterea graduală a temperaturii de la -25°C la 25°C , la 0,9 mbar presiune, timp de 48 ore.

Etapă de omogenizare a biomasei de microorganisme și a siliciului coloidal uscate se realizează în următoarele proporții: 11 părți biomasă de microorganisme și siliciu coloidal uscate, cu 14,5 părți bicarbonat de sodiu, 4,7 părți acid alginic, 4,4 părți acid tartric, 2,3 părți alcool polivinilic, 3 părți croscarmeloză, 59,4 părți celuloză microcristalină, părțile fiind exprimate în unități de masă.

Tableta rezultată este stabilă, cu o rezistență la rupere de circa 7 kP, și se dezintegrează în apă dură standard în mai puțin de 3 minute.

La sfârșitul procedurii de obținere se analizează conținutul de propagule de (Pseudo)xanthomonas prin cultivare pe medii selective. Acest conținut este de minim 5×10^7 ufc/g, și nu scade cu mai mult de 10% prin stocarea tabletelor la temperatura camerei timp de 6 luni.

Această lucrare a fost realizată prin programul Parteneriate in domenii prioritare — PN II, derulat cu sprijinul MEN – UEFISCDI, proiect PN-II-PT-PCCA-2013-4-0846, contract 159/2014 CERES.

REVENDICARI

1. Procedeu de condiționare a microorganismelor biostimulante pentru plante sub formă de tabletă efervescentă, conform invenției, **caracterizat prin aceea că** este constituit din următoarele etape: cultivarea axenică pe medii minimale lichide, care includ 2% dioxid de siliciu coloidal, la pH optim și la aerat până la 50% saturație de oxigen, cu varierea temperaturii de incubare cu un interval de 10°C, 12 ore la 20°C și 12 ore la 30°C, timp de 3-5 zile; recoltarea biomasei de microorganisme și a dioxidului de siliciu coloidal rezidual prin filtrare sub vacuum de min. -0,5 bar; uscarea biomasei de microorganisme și a siliciului coloidal recoltate prin filtrare până la max. 5% umiditate reziduală; omogenizarea a 9-11 părți biomasă de microorganisme și siliciu coloidal, cu 14,2 -14,7 părți bicarbonat de sodiu, 4,5-4,9 părți acid alginic, 4,3-4,5 părți acid tartric, 2,2-2,4 părți alcool polivinilic, 3 părți croscarmeloză, 59,4-61,9 părți celuloză microcristalină, părțile fiind exprimate în unități de masă; granulara umedă a compoziției de mai sus cu 15 părți de soluție alcoolică, care conțin 0,7 părți lecitină modificată, cu o balanță hidrofил - lipofilă HLB mai mare de 8, urmată de uscarea în pat fluidizat, la o temperatură de max. 40°C, până la o umiditate reziduală de max. 2%; comprimarea granulelor la 60 MPa, într-o matrită cu diametru de 1,3 cm, cu formarea unor tablete efervescente de 1 g.
2. Procedeu de condiționare a microorganismelor biostimulante pentru plante sub formă de tabletă efervescentă, caracterizat prin aceea că favorizează eliberarea controlată, în etapa de cultivare axenică pe medii minimale lichide, de acid ortosilicic în concentrații care sunt sub 1 mM.
3. Procedeu de condiționare a microorganismelor biostimulante pentru plante sub formă de tabletă efervescentă **caracterizat prin aceea că** uscarea biomasei de microorganisme și a siliciului coloidal se face prin pulverizarea unei suspensii normalizate la 10% substanță uscată, în condiții blânde, la 130-140°C temperatură de intrare și 75-80°C temperatură de ieșire, atunci când microorganismele cultivate sunt bacterii gram pozitive, care formează endo-spori sau ciuperci microscopice care formează conidii, și prin liofilizare, prin creșterea graduală a temperaturii de la -25°C la 25°C, la 0,9 mbar presiune, timp de 48 ore, atunci când microorganismele sunt bacterii gram-negative.