



(11) **RO 131930 B1**

(51) **Int.Cl.**

A01N 63/02 (2006.01);

A01N 43/08 (2006.01);

C05F 11/08 (2006.01)

(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2015 00944**

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

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/10/2019** BOPI nr. **10/2019**

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

(73) Titular:
• **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,
BUÇUREȘTI, B, RO;**
• **RĂUT IULIANA,
ALEEA BARAJUL BISTRIȚA NR.12, BL.4,
ET.4, AP.54, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B,
RO;**

• **POPESCU MARIANA, STR. VALEA ROȘIE
NR. 6, BL. 62, SC. C, ET. 1, AP. 35,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **FARAON VICTOR, STR. BAI A MARE
NR. 4, BL. 5, SC. 2, ET. 2, AP. 43,
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **DESLIU-AVRAM MALINA, STR. GÂRLENI
NR. 4, BL. C85, SC. A, ET. 6, AP. 40,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
**RO 127295 B1; RO 123027 B1;
WO 2009030723 A1; EP 1713333 B1**

(54) **PROCEDEU DE UTILIZARE A TULPINILOR MICROBIENE
PRODUCĂTOARE DE POLIAMINE ȘI A ANALOGILOR
DE STRIGOLACTONE ÎN SISTEMELE DE AGRICULTURĂ
CONSERVATIVE**



RO 131930 B1

1 Prezenta invenție se referă la un procedeu de utilizare a tulpinilor microbiene
2 producătoare de poliamine, și a analogilor de strigolactone în sistemele de agricultură
3 conservativă.

4 Sunt cunoscute diferite procedee de utilizare a tulpinilor de microorganisme produ-
5 cătoare de poliamine, pentru rezolvarea unor probleme tehnice ale sistemelor de agricultură
6 conservativă. Astfel de sisteme agricole se caracterizează nu numai prin reducerea lucrărilor
7 solului, ci și prin menținerea solului acoperit cu resturi vegetale.

8 În timpul vegetației culturilor principale, acoperirea solului este asigurată de resturile
9 vegetale rezultate din culturile premergătoare, care sunt lăsate fixate sau tocate după
10 recoltare, și/sau dintr-o cultură de acoperire în timpul iernii, transformată în mulci înainte de
11 însămânțarea culturii principale, și/sau prin mulcirea cu materiale vegetale (**Hobbs et al.**
12 **2008, Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 363:**
13 **543-555**). Resturile vegetale care acoperă solul limitează evaporarea apei, facilitează
14 infiltrarea precipitațiilor, reduc eroziunea, ameliorează structura solului, cresc conținutul de
15 materie organică și de carbon, și moderează temperatura solului în zonele calde (**Scopel et**
16 **al. 2013, Agronomy for Sustainable Development, 33: 113-130**).

17 În afara numeroaselor avantaje, sunt și o serie de efecte negative asociate sistemelor
18 de agricultură conservativă cu nivel ridicat de resturi vegetale pe sol. Resturile de plante
19 favorizează dezvoltarea agenților fitopatogeni din sol (**Bockus și Shroyer, 1998, Annual**
20 **Review of Phytopathology, 36: 485-500**), inclusiv a celor devastanți, cum sunt, de
21 exemplu, cei care produc fuzarioza spicului (**Guo et al., 2010, Plant Pathology, 59: 1107-**
22 **1113**). Nivelurile ridicate de resturi vegetale pot reduce disponibilitatea azotului pentru
23 culturile principale în stadiile inițiale de dezvoltare (**Geisseler et al., 2010, Soil Biology and**
24 **Biochemistry, 42: 2058-2067**). Resturile vegetale au efecte nefavorabile asupra înființării
25 culturii și dezvoltării ei în primele faze de vegetație, din cauza reducerii temperaturii solului
26 (**Morris et al., 2009. European Journal of Agronomy, 30: 151-162**). Lucrările reduse ale
27 solului, necesare menținerii resturilor vegetale pe sol, generează dezavantaje legate de
28 supraviețuirea semințelor de buruieni (inclusiv a celor parazite) și de o structură mai puțin
29 aerată (**Page et al., 2013, Australasian Plant Pathology, 42, 363-377**).

30 Microorganismele producătoare de poliamine, aplicate ca tratament al resturilor
31 vegetale, compensează o serie din dezavantajele sistemelor de agricultură cu resturi
32 vegetale menținute la suprafața solului.

33 **RO 127295 B1** descrie un procedeu destinat creșterii nivelului de poliamine din
34 plantele cultivate, concomitent cu reducerea riscului fitosanitar asociat agenților fitopatogeni
35 necrotrofi. Acest procedeu presupune parcurgerea mai multor etape, printre care cea de
36 tratare a mulciului bioactiv obținut prin tăvălugire, cu 600...700 l/ha suspensie ce cuprinde
37 un erbicid total și o suspensie de 10^5 /ml bacterii gram pozitive sporulante, la două săptămâni
38 de la convertirea culturii în mulci, urmată de însămânțarea unei culturi de floarea-soarelui
39 sau de porumb hibrid semitimpuriu.

40 **RO 123027 B1** prezintă o compoziție microbiană biodegradabilă, ideală pentru
41 utilizarea în agricultura organică, în scopul nutriției plantelor de cultură, și un procedeu de
42 obținere a acesteia. Sistemul de eliberare controlată este alcătuit dintr-o matrice
43 biopolimerică, un solvent, un emulgator ecologic și un ingredient activ microbian, care este
44 încorporat în proporție de 5...20%.

45 **WO 2009030723 A1** se referă la o metodă de îmbunătățire a rezistenței plantelor de
46 cultură la stresurile biotice sau abiotice, caracterizată prin aceea că în etapa de cultivare se
47 utilizează cel puțin o moleculă din familia poliaminelor exogene, solubile în apă și de origine
biologică, într-o cantitate suficientă astfel încât să inducă rezistența plantei.

RO 131930 B1

Tulpina Usa₂ de *Bacillus subtilis*, cu număr de depozit DSMZ 23654, menționată în documentul **RO 127514 B1**, prezintă activitate antagonistă față de o serie de fungi fitopatogeni care se dezvoltă pe resturile vegetale, reducând riscul fitosanitar. Poliaminele produse prin descompunerea respectivelor resturi vegetale stimulează dezvoltarea plantelor în primele faze de vegetație, compensând astfel efectul reducerii temperaturii.

Acțiunea de stimulare a creșterii plantelor prin producerea de poliamine a fost demonstrată și pentru tulpinile *B. subtilis* OKB105 (spermidină, **Xie et al., 2014, Molecular Plant-Microbe Interactions, 27: 655-663**), *Paenibacillus yonginensis* DCY84(T) (spermidină, **Sukweenadhi et al., 2014, Antonie van Leeuwenhoek, 106: 935-945**), *Candida tropicalis* HY (putresceină, **Amprayn et al., 2012, Applied Soil Ecology, 61: 295-299**), *Azospirillum brasilense* Az39 (cadaverină, **Cassan et al., 2009, European Journal of Soil Biology, 45: 12-19**), *Streptomyces griseoluteus* WT (putresceină, **Nassar et al., 2003, Plant Growth Regulation, 40: 97-106**). Tulpinile antagoniste față de agenți fitopatogeni din sol și producătoare de poliamine, *B. amyloliquefaciens* OS 17, *B. amyloliquefaciens* BW, *B. pumilus* OS 15 (**Sicua et al., 2012, Romanian Biotechnological Letters, 17: 7610-7619**), *B. amyloliquefaciens* B165 (brevet **RO 126362**) și *Brevibacillus laterosporus* 56.1s (brevet **RO 127295**), au fost descrise ca având proprietăți de bioactivare a mulciului/resturilor vegetale de la suprafața solului, și de reducere a dezavantajelor produse de acestea.

De asemenea, documentul **WO 2009030723 A1** face cunoscută utilizarea poliaminelor exogene, cadaverină, putresceină, spermidină, spermine, pentru creșterea rezistenței plantelor la factorii de stres.

Acțiunea unor astfel de microorganisme benefice inoculante este însă relativ redusă în timp, și depinde de capacitatea de colonizare rapidă a substratului pe care au fost inoculate (**Lugtenberg, și Kamilova, 2009, Annual Review of Microbiology, 63: 541-556**). De asemenea, aplicarea microorganismelor producătoare de poliamine din resturile vegetale nu reduce infestarea cu buruieni (inclusiv parazite) și nu contribuie la o aerare suplimentară a solului.

Autorii au găsit că aplicarea de strigolactone împreună cu tulpinile de microorganisme producătoare de poliamine accelerează colonizarea de către respectivele microorganisme a resturilor vegetale, și stimulează formarea de poliamine din resturile vegetale.

Sunt cunoscute diferite utilizări în practica agricolă a strigolactonelor, compuși caretonoidici sintetizați de rădăcinile plantelor, cu rol de endo- și exo-semnale (**Xie et al., 2010, Annual Review of Phytopathology, 48: 93-117**).

EP 1713333 B1 prezintă utilizarea strigolactonelor naturale, strigol, alectrol, sorgolactone, orobanchol sau a analogilor lor sintetici GR7, GR24, pentru intensificarea interacției simbiotice dintre ciupercile producătoare de endo-micorize și plantele cultivate.

FR 2930402 B1 se referă la un procedeu de tratament al plantelor superioare, destinat controlării creșterii acestora. Aplicarea se realizează prin injectarea unei cantități de cel puțin 1 nM, necesară pentru inhibarea cel puțin a unei ramificații.

EP 2248421 A1 descrie folosirea strigolactonelor pentru promovarea creșterii secundare a plantelor și, implicit, pentru acumularea de biomasă, creșterea rezistenței la cădere a tulpinilor, și a capacității de transport prin vasele conducătoare, lemnoase și liberiene. Procedeu de aplicare revendicat implică stropirea sau irigarea plantelor cu o suspensie sau o soluție care conține strigolactone - dar nu sunt precizate concentrațiile efective.

FR 2990945 B1 dezvăluie un nou analog sintetic de strigolactone, utilizabil pentru controlarea creșterii și arhitecturii plantelor, care este aplicat prin stropirea plantelor cu soluții/suspensii care conțin între 0,1 și 1000 nM de analog strigolactone, de preferință între 1 și 100 nM.

RO 131930 B1

1 **US 8980795 B2** protejează noi analogi de strigolactone, și utilizarea lor pentru:
2 germinația suicidală a semințelor de buruieni parazite (în absența rădăcinilor plantelor
3 gazdă, care să le asigure plantelor parazite dezvoltarea ulterioară); reglarea ramificării,
4 înfrățirii și dezvoltării plantelor și/sau stimulării dezvoltării simbiozelor micorizale. Analogii de
5 strigolactone revendicați în brevetul **US 8 980795 B2** sunt incluși în compoziții împreună cu
6 un insecticid, pentru protecția plantelor cultivate împotriva agenților de dăunare.

7 **US 8101171 B2** prezintă utilizarea strigolactonelor naturale, strigol, alectrol,
8 sorgolactone, orobanchol, sau a analogilor lor sintetici GR7, GR24, Nijmegen01,
9 dimetilsorgolactone, pentru intensificarea interacției simbiotice dintre ciupercile producătoare
10 de endo-micorize (AM) și plantele cultivate. Brevetul revendică aplicarea repetată a
11 strigolactonelor care stimulează/intensifică interacția simbiotică AM - rădăcinile plantelor de
12 cultură, dar nu exemplifică modalitatea concretă prin care se realizează această aplicare
13 repetată.

14 Amplificarea efectului strigolactonelor/analogilor de strigolactone de exo-semnal
15 implicat în stabilirea interacțiilor simbiotice benefice din rizosfera plantelor cultivate a fost
16 realizată prin utilizarea chito-oligozaharidelor - cerere de brevet **WO 2010125065 A2**.
17 Compoziția descrisă în acest document poate fi suplimentată cu spori de ciuperci de
18 micoriză, rizobii sau bacterii care stimulează creșterea plantelor, se condiționează sub formă
19 lichidă sau pulverulentă, și se aplică ca tratament la sămânță, tratament foliar sau al
20 tulpinilor, prin irigarea solului (chemirigare) sau prin tratament în brazdă. Nu a fost
21 revendicată însă, pentru o astfel de compoziție, utilizarea ca tratament al resturilor vegetale
22 în sistemele de agricultură conservativă.

23 O problemă a aplicării strigolactonelor este determinată de hidrofobicitatea lor,
24 combinată cu o instabilitate relativ ridicată - prin definiție analogii de strigolactone includ o
25 legătură labilă enol-eter între inelele aromatice C și D, strict necesară pentru activitatea
26 biologică (**Smith și Waters, 2012, Current Biology, 22: R924-R927**), care se clivează cu
27 ușurință în condiții adverse de mediu.

28 Formarea simbiozelor endo-micorizale dintre rădăcinile plantelor de cultură și fungii
29 AM este stimulată atât de către strigolactone (**Akiyama et al., 2005, Nature, 435: 824-827**),
30 cât și de poliaminele exogene (**Cheng et al., 2012, World Journal of Microbiology and
31 Biotechnology, 28: 1615-1621**). Este necesară stabilirea unui raport optim de
32 aplicare/eliberare în sol, la care efectul să fie cumulativ (și eventual sinergie), fără interacții
33 negative/disonanțe.

34 O interacție pozitivă între acțiunea stimuloare a poliaminelor și a strigolactonelor
35 ar trebui să determine o creștere a gradului de aerare a solului și a stabilității agregatelor de
36 sol, datorită efectului de structurare rezultat ca urmare a dezvoltării hifelor de fungi AM și a
37 producerii suplimentare de glomalina. Glomalina, o glicoproteină hidrofobă și înalt rezistentă
38 la biodegradare, exsudată în sol de simbiozele endo-micorizale, are un rol semnificativ în
39 formarea agregatelor de sol cu stabilitate ridicată în apă (**Singh et al., 2013. Protoplasma,
40 250: 663-669**).

41 Aplicarea strigolactonelor determină și o reducere a rezervei de semințe de buruieni
42 parazite, pentru că induc germinarea suicidală a acestora (**Kgosi et al., 2012, Weed
43 Research, 52: 197-203**), dar nu are efect asupra celorlalte buruieni. Poliaminele eliberate
44 de microorganismele aplicate ca tratament al resturilor vegetale pot stimula și dezvoltarea
45 buruienilor, nu numai a plantelor de cultură, astfel încât este necesară realizarea unei sec-
46 vențe tehnologice, asociate utilizării de strigolactone și de microorganismele producătoare de
47 poliamine, prin care să se limiteze dezvoltarea buruienilor competitori plantelor de cultură.

RO 131930 B1

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este exploatarea optimă a interacțiunii dintre microorganismele producătoare de poliamine și analogii de strigolactone, în scopul limitării efectelor cauzate de prezența resturilor vegetale pe sol, inclusiv în ceea ce privește rezerva mai ridicată de semințe de buruieni din sol, și structura mai puțin aerată a solului, în cadrul sistemelor de agricultură conservativă.	1 3 5
Procedeul conform invenției este alcătuit din următoarele etape:	
- tratarea resturilor vegetale care acoperă solul, în cadrul sistemelor de agricultură conservativă, cu un biopreparat cu eliberare controlată, realizat pe baza unei tulpini microbiene producătoare de poliamine, ce răspunde pozitiv la analogii de strigolactone, într-o doză de 2 kg/ha, cu o normă de stropire de 400 l/ha, la 7 zile de la însămânțarea culturii principale;	7 9 11
- aplicarea unui tratament cu 20 g/ha analog de strigolactone, înglobat în 200 g tribloc co-polimer, format dintr-un bloc central hidrofob de polioxipropilenă, flancat de două blocuri hidrofile de polioxietilenă, și dispersat în 400 l de suspensie agent de legare resturi vegetale, la 2 săptămâni de la tratamentul cu biopreparat cu eliberare controlată.	13 15
Biopreparatul cu eliberare controlată, utilizat pentru tratarea resturilor vegetale, este alcătuit din 32 părți sare de potasiu a co-polimerului grefat amidon - poli (2 propenamidă co-acid 2-propenoic), 8 părți amidon în care sunt înglobate propagulele de microorganismе, 7,4 părți esteri etilici ai acizilor grași, 3 părți lecitină, 1,1 părți săpun de potasiu, 0,7 părți glicerol, 0,6 părți grăsimi nesaponificabile din ulei de rapiță, restul până la 100 părți apă, și minimum 10 ⁸ ufc/g microorganismе benefice plantelor producătoare de poliamine.	17 19 21
Suspensia de agent de legare resturi vegetale este constituită din 8 g/l de poli-acrilamidă anionică cu o densitate redusă de sarcini, 11 g/l sare de potasiu a co-polimerului grefat amidon - poli (2 propenamidă co-acid 2-propenoic) și 1 g/l de tetraborat de sodiu decahidrat.	23 25
Procedeul conform invenției prezintă următoarele avantaje:	
- asigură o colonizare uniformă și reproductibilă de către tulpinile de microorganismе biostimulante producătoare de poliamine, cu propagule eliberate succesiv din compoziția cu eliberare controlată;	27 29
- distribuie uniform într-o suspensie apoasă strigolactonele hidrofobe, care sunt înglobate într-o structură micelară amfifilă, de tribloc co-polimer format dintr-un bloc central hidrofob de polioxipropilenă, flancat de două blocuri hidrofile de polioxietilenă;	31
- limitează eliberarea strigolactonelor la temperaturi excesive, pentru că tribloc co-polimerul, în care sunt înglobate strigolactonele, formează o structură lichidă la temperaturi scăzute, și solidă la temperaturi de peste 25...30°C;	33 35
- permite un efect optim al strigolactonelor asupra microorganismelor biostimulante producătoare de poliamine, pentru că aplică strigolactonele după ce microorganismele au colonizat deja substratul;	37
- stabilește un raport optim de aplicare/eliberare în sol a poliaminelor și a strigolactonelor, la care efectul este cumulativ, fără interacții negative/disonanțe, datorită decalării în timp a tratamentelor, permițând eventualului exces de poliamine să fie adsorbit de materia organică din sol;	39 41
- reduce riscul fitosanitar determinat de prezența resturilor vegetale menținute la suprafața solului în sistemele CA, prin aplicarea pe respectivele resturi vegetale a tulpinilor biostimulante producătoare de poliamine, care sunt recunoscute ca având și acțiune antifungică;	43 45
- elimină întârzierile în creșterea și dezvoltarea plantelor, rezultate ca urmare a reducerii temperaturii solului acoperit de resturi vegetale, datorită acțiunii biostimulante a tulpinilor producătoare de poliamine;	47 49

RO 131930 B1

1 - reduce dezvoltarea buruienilor pentru că stabilizează resturile vegetale, prin
reticulare cu agentul de legare a resturilor vegetale, blocând mecanic germinarea semințelor
3 de buruieni și creșterea ulterioară a acestora;

5 - accelerează descompunerea resturilor vegetale, datorită creșterii activității apei în
resturile vegetale sub acțiunea co-polimerului super-adsorbant, aplicat ca tratament al
7 resturilor vegetale, împreună cu microorganismele producătoare de poliamine și cu
strigolactonele.

9 În continuare sunt prezentate exemple de realizare a invenției, care o ilustrează, fără
a o limita.

Exemplul 1

11 Se cultivă *Trichoderma asperelum* Td36b, NCAIM (P) F 001434, pe un mediu lichid
cartof - glucoză, aerat și agitat, timp de 3 zile, la 28°C, până la obținerea unei densități de
13 10⁹ propagule per ml de mediu. Se recoltează biomasa de *Trichoderma*, se amestecă apoi
cu amidon solubil (AGFD - Agrana, Țăndărei, România), în raport de 2 părți amidon solubil
15 la 1 parte biomasă *Trichoderma*, se diluează suspensia cu tampon fosfat salin la 10%
substanță uscată, și se usucă prin pulverizare, în condiții blânde, 120...140°C temperatură
17 de intrare, maximum 70°C temperatură de ieșire.

19 Amidonul solubil folosit are următoarele caracteristici: umiditate maximum 12%;
reziduu la calcinare maximum 0,5%; pH (2% soluție apoasă) - 6,5. Orice alt amidon solubil
cu caracteristici similare poate fi folosit în acest procedeu.

21 Se reiau 8 părți de amidon în care în care sunt înglobate propagulele de
microorganisme, și se amestecă energic cu 32 părți sare de potasiu a co-polimerului grefat
23 amidon - poli (2 propenamidă co-acid 2-propenoic) (Zeba, Absorbent Technologies,
Beaverton, OR, SUA), 10 părți masă de reacție neutralizată de la transesterificarea uleiului
25 de rapiță, 3 părți lecitină (Thermolec® WFC, Archer Daniels Midland, Decatur, IL, SUA) și
restul până la 100 părți apă, părțile fiind exprimate în unități de masă.

27 Sarea de potasiu a co-polimerului grefat amidon - poli (2 propenamidă co-acid
2-propenoic) conține 83% amidon și are un coeficient de gonflare în apă de minimum 40.
29 Orice polimer grefat gonflabil cu caracteristici similare poate fi utilizat în procedeu de
condiționare biomasă microorganisme de mai sus.

31 Lecitina folosită are o balanță hidrofili-lipofilă mai mare de 8, dar orice altă lecitină
modificată cu caracteristicile de mai sus poate fi utilizată.

33 Masa de reacție neutralizată de la transesterificarea uleiului de rapiță s-a obținut
conform procedeuului descris în continuare. 1000 g de ulei degumat de rapiță, cu carac-
35 teristicile prezentate în tabel, a fost adus într-o autoclavă de 2 l din oțel inox, cu sistem de
agitare și de încălzire, sub atmosferă protectoare de azot. S-au dizolvat 25 g de hidroxid de
37 potasiu de puritate 98% în 210 g de etanol cu 0,3% apă, iar soluția rezultată a fost adăugată
în autoclav peste uleiul degumat de rapiță. Se pornește agitarea și încălzirea la 40°C. După
39 un timp de reacție de 8 h, masa de reacție s-a răcit la temperatura camerei. S-au colectat
1225 g de produs P1. 500 g de produs P1 s-a tratat cu acid oleic tehnic, obținându-se masa
41 de reacție neutralizată de la transesterificarea uleiului de rapiță, cu următoarea compoziție:
(% m/m): esteri etilici de acizi grași (FAEE) 74,5; trigliceride 5,9; glicerol 7,1; săpun de
43 potasiu 11,4 și apă 1,1.

RO 131930 B1

Caracteristicile uleiului degumat de rapiță folosit

Apă și compuși volatili	% m/m	0,4	1
Substanțe nesaponificabile	% m/m	1,4	3
Acizi grași liberi	% m/m	1,9	
Index de saponificare	mg KOH/g	169,5	5
Compoziția medie în acizi grași (% w/w): C16: 2.4; C18: 1.2 ; C18-1: 16.1; C18-2: 24.5; C18-3: 7.3; C20-1: 7.3; C22-1: 42.4			7

Rezultă un biopreparat cu eliberare controlată, ce are următoarea compoziție: 8 părți amidon în care sunt înglobate propagulele de microorganisme, 7,4 părți esteri etilici ai acizilor grași, 3 părți lecitină, 1,1 părți săpun de potasiu, 0,7 părți glicerol, 0,6 părți grăsimi nesaponificabile din ulei de rapiță, restul până la 100 părți apă, și minimum 10^8 ufc/g microorganisme Td36b.

La 7 zile de la însămânțarea culturii principale se tratează resturile vegetale care acoperă solul, în cadrul sistemelor de agricultură conservativă, cu biopreparatul cu eliberare controlată, realizat conform procedurii de mai sus, într-o doză de 2 kg/ha, cu o normă de stropire de 400 l/ha. Biopreparatul hidrogelificat cu eliberare controlată, realizat conform procedurii de mai sus, se resuspendă mai întâi, 2 kg în 25 l de apă, care apoi sunt omogenizate în cei 400 l. Se aplică o stropire a resturilor vegetale de la 20 cm înălțime, cu o presiune de 275 kPa, folosind o duză cu jet plat și derivă limitată (TeeJett® flat-fan TT11002 model, Spraying Systems Co., Wheaton, IL, SUA), pentru a asigura o aplicare uniformă a biopreparatului pe suprafața resturilor vegetale.

La 2 săptămâni de la tratamentul cu biopreparatul cu eliberare controlată se aplică un tratament cu 20 g/ha analog de strigolactone. Se folosește 3-metil-5-(2-pirimidin-4-il-fenoxi)-5H-furan-2-onă, un analog de strigolactone mai ușor de sintetizat. Analogul se înglobează în 200 g tribloc co-polimer, format dintr-un bloc central hidrofob de polioxipropilenă, flancat de două blocuri hidrofile de polioxietilenă (Poloxamer 407/Pluronic® F127, BASF AG, Ludwigshafen, Germania), care formează o structură lichidă la temperaturi scăzute, și solidă la temperaturi de peste 25...30°C. Orice alt tribloc copolimer, cu caracteristici similare de gelifiere inversă, poate fi utilizat.

Analogul de strigolactone, înglobat în tribloc copolimer, este dispersat în 400 l de suspensie de agent de legare resturi vegetale. Suspensia de agent de legare resturi vegetale este constituită din 8 g/l de poli(acrilamidă anionică având o densitate redusă de sarcini (Flopam® EM235, SNF Floerger®, Andezieux, France), 11 g/l sare de potasiu a co-polimerului grefat amidon - poli (2 propenamidă co-acid 2-propenoic) (Zeba, Absorbent Technologies) și 1 g/l de tetraborat de sodiu decahidrat. Se aplică o stropire a resturilor vegetale de la 20 cm înălțime, cu o presiune de 275 kPa, folosind o duză cu jet plat și derivă limitată (TeeJett® flat-fan TT11002 model), pentru a asigura o aplicare uniformă a biopreparatului pe suprafața resturilor vegetale.

Poli(acrilamidă anionică având o densitate redusă de sarcini prezintă o densitate aparentă de $1,03 \text{ g/cm}^3$, un conținut mediu de solide nevolatile de min 37,5% și generează soluții cu o vâscozitate de 100 cP la o concentrație de 1%. Orice altă poli(acrilamidă cu caracteristici similare poate fi folosită, pentru a forma, împreună cu sarea de potasiu a co-polimerului grefat amidon - poli (2 propenamidă co-acid 2-propenoic), un agent de legare/reticulare a resturilor vegetale.

RO 131930 B1

1 **Exemplul 2**

3 Se procedează ca în exemplul 1, numai că se folosește *Brevibacillus parabrevis* B50,
NCAIM (P) B 001413, ca microorganism producător de poliamine, și 3-metil-5-(4-
fenilchinazolin-2-il-oxi)-5H-furan-2-onă ca analog de strigolactone.

5 **Exemplul 3**

7 Se procedează ca în exemplul 1, numai că se folosește *Trichoderma harzianum*
Td50b, NCAIM (P) F 001412 ca microorganism producător de poliamine.

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

RO 131930 B1

Revendicări

1

1. Procedeu de utilizare a tulpinilor microbiene producătoare de poliamine și a analogilor de strigolactone în sistemele de agricultură conservativă, **caracterizat prin aceea că** este alcătuit din următoarele etape: tratarea resturilor vegetale care acoperă solul, în cadrul sistemelor de agricultură conservativă, cu un biopreparat cu eliberare controlată, realizat pe baza unei tulpini microbiene producătoare de poliamine, ce răspunde pozitiv la analogii de strigolactone, într-o doză de 2 kg/ha, cu o normă de stropire de 400 l/ha, la 7 zile de la însămânțarea culturii principale; aplicarea unui tratament cu 20 g/ha analog de strigolactone, înglobat în 200 g tribloc co-polimer, format dintr-un bloc central hidrofob de polioxipropilenă, flancat de două blocuri hidrofile de polioxietilenă, și dispersat în 400 l de suspensie agent de legare resturi vegetale, la 2 săptămâni de la tratamentul cu biopreparat cu eliberare controlată.

2. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** biopreparatul cu eliberare controlată, utilizat pentru tratarea resturilor vegetale, este alcătuit din 32 părți sare de potasiu a co-polimerului grefat amidon - poli (2 propenamidă co-acid 2-propenoic), 8 părți amidon în care sunt înglobate propagulele de microorganisme, 7,4 părți esteri etilici ai acizilor grași, 3 părți lecitină, 1,1 părți săpun de potasiu, 0,7 părți glicerol, 0,6 părți grăsimi nesaponificabile din ulei de rapiță, restul până la 100 părți apă, și minimum 10^8 ufc/g microorganisme benefice plantelor producătoare de poliamine.

3. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** suspensia de agent de legare resturi vegetale este constituită din 8 g/l de poli(acrilamindă anionică având o densitate redusă de sarcini, 11 g/l sare de potasiu a co-polimerului grefat amidon - poli (2 propenamidă co-acid 2-propenoic) și 1 g/l de tetraborat de sodiu decahidrat.



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 456/2019