



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

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

(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;**

• **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**

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

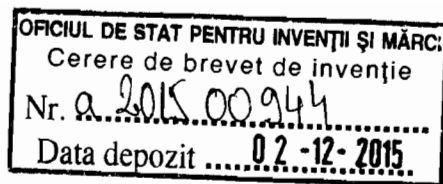
(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de utilizare a tulpinilor de microorganisme producătoare de poliamine, și a unor analogi de strigolactone în sistemele de agricultură conservative. Procedeu conform invenției constă în tratarea resturilor vegetale care acoperă solul cu un biopreparat cu eliberare controlată pe bază de tulpini microbiene producătoare de poliamine, 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 dispersat în 400 l suspensie agent de legare resturi vegetale, la 2 săptămâni de la tratamentul cu biopreparat.

Revendicări: 3





PROCEDEU DE UTILIZARE A TULPINILOR MICROBIENE PRODUCATOARE DE POLIAMINE SI A ANALOGLOR DE STRIGOLACTONELOR ÎN SISTEMELE DE AGRICULTURĂ CONSERVATIVE

Prezenta invenție se referă la un procedeu de utilizare a tulpinilor de microorganisme producătoare de poliamine, împreună cu analogi de strigolactone, în cadrul sistemelor de agricultură conservative.

Sunt cunoscute diferite procedee de utilizare a tulpinilor de microorganisme producătoare de poliamine pentru rezolvarea unor probleme tehnice ale sistemelor de agricultură conservative. Astfel de sisteme agricole se caracterizează nu numai prin reducerea lucrărilor solului, ci și prin menținerea solului acoperit cu resturi vegetale. În timpul vegetației culturilor principale acoperirea este asigurată de resturile vegetale rezultate din culturile premergătoare, care sunt lăsate fixate sau tocate după recoltare, și/sau dintr-o cultură de acoperire în timpul iernii, transformată în mulci înainte de însămânțarea culturii principale, și/sau prin mulcirea cu materiale vegetale (Hobbs et al. 2008, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363:543-555.). Resturile vegetale care acoperă solul limitează evaporarea apei, facilitează infiltrarea precipitațiilor, reduc eroziune, ameliorează structura solului, cresc conținutul de materie organică și de carbon, și moderează temperatura solului în zonele calde (Scopel et al. 2013, *Agronomy for Sustainable Development*, 33:113-130).

În afara numeroaselor avantaje sunt și o serie de efecte negative asociate sistemelor cu nivel ridicat de resturi vegetale pe sol. Resturile de plante favorizează dezvoltarea agenților fitopatogeni din sol (Bockus și Shroyer, 1998, *Annual Review of Phytopathology*, 36:, 485-500), inclusiv a celor devastanți, cum sunt de exemplu cei care produc fuzarioza spicului (Guo et al. 2010, *Plant Pathology*, 59: 1107-1113). Nivelele ridicate de resturi vegetale pot reduce disponibilitatea azotului pentru culturile principale în stadiile inițiale de dezvoltare (Geisseler et al. 2010, *Soil Biology and Biochemistry*, 42:2058-2067). Resturile vegetale au efecte nefavorabile asupra înființării culturii și dezvoltării ei în primele faze de vegetație datorită reducerii temperaturii solului (Morris et al. 2009, *European Journal of Agronomy*, 30: 151-162). Lucrările reduse ale solului, necesare menținerii resturilor vegetale pe sol, generează dezavantaje legate de supraviețuirea

semințelor de buruieni (inclusiv a celor parazite) și de o structură mai puțin aerată (Page et al., 2013, *Australasian Plant Pathology*, 42, 363-377).

Microorganismele producătoare de poliamine, aplicate ca tratament al resturilor vegetale, compensează o serie din dezavantajele sistemelor de agricultură cu resturi vegetale menținute la suprafața solului. De exemplu tulpina Usa₂ de *Bacillus subtilis*, cu număr de depozit DSMZ 23654, protejată prin brevetul RO 127 514 B1, a fost revendicată ca având astfel de acțiuni. Activitatea antagonistă față de o serie de fungi fitopatogeni care se dezvoltă pe resturile vegetale reduce riscul fitosanitar. Poliaminele produse prin descompunerea respectivelor resturi vegetale stimulează dezvoltarea plantelor în primele faze de vegetație, compensând 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* OS17, *B. amyloliquefaciens* BW, *B. pumilus* OS15 (Sicua et al. 2012, *Romanian Biotechnological Letters*, 17: 7610-7619), *B. amyloliquefaciens* B165 (Brevet RO 126 362) și *Brevibacillus laterosporus* 56.1s (Brevet RO 127 295), 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 este cunoscută utilizarea poliaminelor exogene, cadaverină, putresceină, spermidină, spermine, pentru creșterea rezistenței plantelor la factorii de stres (Cerere de brevet WO 2009030723 A1).

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 strigolactonele, compuși caretonoidici sintetizați de rădăcinile plantelor, cu rol de endo- și exo-semnale (Xie et al. 2010, *Annual Review of Phytopathology*, 48: 93-117). Brevetul FR 2930402 B1 se referă la un procedeu de tratament al plantelor destinate controlării creșterii acestora. Aplicarea se realizează prin injectarea unei cantități de cel puțin 1 nM, necesară pentru inhibarea a cel puțin unei ramificații. Cererea de brevet 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. Procedul de aplicare revendicat implică stropirea sau irigarea plantelor cu o suspensie sau o soluție care conține strigolactone – dar nu sunt precizate concentrațiile efective. Brevetul FR2990945 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. Brevetul SUA 8 980 795 B2 protejează noi analogi de strigolactone și utilizarea lor pentru: germinarea suicidară a semințelor de buruieni parazite (în absența rădăcinilor plantelor gazdă, care să le asigure plantelor parazite dezvoltarea ulterioară); reglarea ramificării, înfrățirii și dezvoltării plantelor și/sau stimulării dezvoltării simbiozelor micorizale. Analogii de strigolactone revendicați prin brevetul SUA 8 980 795 B2 sunt incluși în compoziții împreună cu un insecticid, pentru protecția plantelor cultivate împotriva agenților de dăunare.

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

această aplicare repetată. Amplificarea efectului strigolactonelor / analogilor de strigolactone, de exo-semnal implicat în stabilirea interacțiilor simbiotice benefice din rizosfera plantelor cultivate, a fost realizată prin utilizarea chito-oligozaharidelor – brevet WO 2010125065 A2. Compoziția protejată prin această cerere de brevet WIPO, poate fi suplimentată cu spori de ciuperci de micoriză, rhizobii sau bacterii care stimulează creșterea plantelor, se condiționează sub formă lichidă sau pulverulentă, și se aplică ca tratament la sămânță, tratament foliar sau al tulpinilor, prin irigarea solului (chemirigare) sau prin tratament în brazdă. Nu a fost revendicată însă pentru o astfel de compoziție utilizarea ca tratament al resturilor vegetale în sistemele de agricultură conservativă.

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

Formarea simbiozelor endo-micorizale dintre rădăcinile plantelor de cultură și fungii AM este stimulată atât de către strigolactone (Akiyama et al. 2005, *Nature*, 435: 824-827), cât și de poliaminele exogene (Cheng et al. 2012, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28: 1615-1621). Este necesară stabilirea unui raport optim de aplicare / eliberare în sol, la care efectul să fie cumulativ (și eventual sinergic), fără interacții negative / disonanțe. O interacție pozitivă între acțiunea stimulatorie a poliaminelor și a strigolactonelor ar trebui să determine o creștere a gradului de aerare a solului și a stabilității agregatelor de sol, datorită efectului de structurare rezultat ca urmare a dezvoltării hifelor de fungi AM și a producerii suplimentare de glomalină. Glomalina, o glicoproteină hidrofobă și înalt rezistentă la biodegradare, exsudată în sol de simbiozele endo-micorizale, are un rol semnificativ în formarea agregatelor de sol cu stabilitate ridicată în apă (Singh et al. 2013. *Protoplasma*, 250: 663-669).

Aplicarea strigolactonelor determină și o reducere a rezervei de semințe de buruieni parazite, pentru că induc germinarea suicidală a acestora (Kgosí et al, 2012, *Weed Research*, 52: 197-203), dar nu are efect asupra celorlalte buruieni. Poliaminele eliberate de microorganismele aplicate ca tratament al resturilor vegetale pot stimula și dezvoltarea buruienilor, nu numai a plantelor de cultură, astfel încât este necesară realizarea unei

secvențe tehnologice, asociate utilizării de strigolactone și de microorganisme producătoare de poliamine, prin care să se limiteze dezvoltarea buruienilor competitive plantelor de cultură.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este de a realiza un procedeu de utilizare a analogilor de strigolactone și a microorganismelor producătoare de poliamine, în cadrul sistemelor de agricultură conservativă, prin care să se exploateze optim interacțiunea dintre respectivele microorganisme și respectivii analogi de strigolactone, pentru limitarea unor dezavantaje ale prezenței 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.

Procedeele 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, care răspunde pozitiv la analogii de strigolactone, într-o doză de 2 kg/ha, cu o normă de stropire de 400 litri/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 litri de suspensie agent de legare resturi vegetale, la 2 săptămâni de la tratamentul cu biopreparat cu eliberare controlată.

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 min. 10^8 ufc/g microorganisme benefice plantelor producătoare de poliamine.

Suspensia de agent de legare resturi vegetale este constituită din 8 grame per litru de poliacrilamidă anionică cu o densitate redusă de sarcini, 11 grame per litru sare de potasiu a co-polimerului grefat amidon – poli (2 propenamidă co-acid 2-propenoic) și 1 g per litru de tetraborat de sodiu decahidrat.

Procedeul conform invenției prezintă următoarele avantaje:

- ✓ Asigură o colonizare uniformă și reproductibilă de către tulpinile de microorganisme biostimulante producătoare de poliamine, cu propagule eliberate succesiv din compoziția cu eliberare controlată;
- ✓ 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;
- ✓ 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;
- ✓ Permite un efect optim al strigolactonelor asupra microorganismelor biostimulante producătoare de poliamine, pentru că aplică strigolactonele după ce microorganismele au colonizat deja substratul;
- ✓ 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;
- ✓ 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;
- ✓ 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;
- ✓ Reduce dezvoltarea buruienilor pentru că stabilizează resturile vegetale, prin reticulare cu agentul de legare a resturilor vegetale, blocând mecanic germinarea semințelor de buruieni și creșterea ulterioară a acestora;
- ✓ Accelerează descompunerea resturilor vegetale, datorită creșterii activității apei în resturile vegetale sub acțiunea co-polimerului super-adsorbant aplicați ca tratament al resturilor vegetale, împreună cu microorganismele producătoare de poliamine și cu strigolactonele.

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

Exemplu 1. Se cultivă pe un mediu *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 10^9 propagule per ml de mediu. Se recoltează biomasa de *Trichoderma*, se amestecă cu amidon solubil (AGFD – Agrana, Țăndărei, România), în raport de 2 părți amidon solubil 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 de intrare, maximum 70°C temperatură de ieșire.

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

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 amidon – poli (2 propenamidă co-acid 2-propenoic) (Zeba, Absorbent Technologies, Beaverton, OR, SUA), 10 părți masă de reacție neutralizată de la transesterificarea uleiului 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.

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. Orice polimer grefat gonflabil cu caracteristici similare poate fi utilizat în procedeul de condiționare biomasă microorganisme de mai sus.

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

Masa de reacție neutralizată de la transesterificarea uleiului de rapiță s-a obținut conform procedurii descris în continuare. 1000 g de ulei degumat de rapiță, cu caracteristicile prezentate în tabelul 1 a fost adus într-o autoclavă de 2 litri din oțel inox, cu sistem de agitare și de încălzire, sub atmosferă protectoare de azot. S-au dizolvat 25 g de hidroxid de 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 un timpul de reacție de 8 ore, 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 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 potasiu 11,4 și apă 1,1.

Tab. 1. Caracteristicile uleiului degumat de rapiță folosit

Apă și compuși volatili	% m/m	0,4
Substanțe nesaponificabile	% m/m	1,4
Acizi grași liberi	% m/m	1,9
Index de saponificare	mg KOH/g	169,5
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		

Rezultă un biopreparat cu eliberare controlată care 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 min. 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 litri/ha. Biopreparatul hidrogelifiat cu eliberare controlată realizat conform procedurii de mai sus se resuspendă mai întâi, 2 kg în 25 litri de apă, care apoi sunt omogenizate în cei 400 litri. 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 litri de suspensie de agent de legare resturi vegetale. Suspensia de agent de legare resturi vegetale este constituită din 8 grame per litru de poliacrilamidă anionică cu o densitate redusă de sarcini (Flopam® EM235, SNF Floerger®, Andezieux, France), 11 grame per litru sare de potasiu a co-polimerului grefat amidon – poli (2 propenamidă co-acid 2-propenoic) (Zeba, Absorbent Technologies) și 1 g per litru 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.

Poliacrilamidă anionică cu o densitate redusă de sarcini are o densitate aparentă de 1,03 g/cm³, un conținut mediu de solide nevolatile de min 37,5% și generează soluții cu o viscozitate de 100 cP la o concentrație de 1%. Orice altă poliacrilamidă 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.

Exemplu 2. Se procedează ca în exemplu 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.

Exemplu 3. Se procedează ca în exemplu 1, numai că se folosește *Trichoderma harzianum* Td50b, NCAIM (P) F 001412 ca microorganism producător de poliamine.

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

REVEDICARI

1. Procedeu de utilizare a tulpinilor microbiene producatoare de poliamine si a analogilor de strigolactonelor în sistemele de agricultură conservative, conform invenției, **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, care răspunde pozitiv la analogii de strigolactone, într-o doză de 2 kg/ha, cu o normă de stropire de 400 litri/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 litri de suspensie agent de legare resturi vegetale, la 2 săptămâni de la tratamentul cu biopreparat cu eliberare controlată.

2. Procedeu de utilizare a tulpinilor microbiene producatoare de poliamine si a analogilor de strigolactonelor în sistemele de agricultură conservative, 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 min. 10^8 ufc/g microorganisme benefice plantelor producătoare de poliamine.

3. Procedeu de utilizare a tulpinilor microbiene producatoare de poliamine si a analogilor de strigolactonelor în sistemele de agricultură conservative, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** suspensia de agent de legare resturi vegetale este constituită din 8 grame per litru de poliacrilamidă anionică cu o densitate redusă de sarcini, 11 grame per litru sare de potasiu a co-polimerului grefat amidon – poli (2 propenamidă co-acid 2-propenoic) și 1 g per litru de tetraborat de sodiu decahidrat.