



(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2016 00892**

(22) Data de depozit: **23/11/2016**

(41) Data publicării cererii:  
**30/05/2018** BOPI nr. **5/2018**

(71) Solicitant:  
• **TESO SPEC S.R.L.**, STR. MUNCII NR. 53,  
PARTER, FUNDULEA, CL, RO

(72) Inventatori:  
• **GEORGESCU FLORENTINA**,  
STR. INDEPENDENȚEI NR.5, BL.6, SC.A,  
AP.7, RÂMNICU-VĂLCEA, VL, RO;  
• **GEORGESCU EMILIAN**,  
STR. INDEPENDENȚEI NR. 5, BL. 6, SC. A,  
AP. 7, RÂMNICU-VĂLCEA, VL, RO;

• **OANCEA FLORIN**, STR.PAȘCANI NR.5,  
BL.D 7, SC.E, ET.2, AP.45, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• **VLĂDULESCU LUCIAN-CONSTANTIN**,  
STR. ELEFTERIE NR. 31, AP. 1, SECTOR 5,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• **RĂUT IULIANA**,  
ALEEA BARAJUL BISTRIȚA NR.12, BL.4,  
SC.1, ET. 4, AP.54, SECTOR 3,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• **JECU MARIA-LUIZA**,  
STR.PICTOR OCTAV BĂNCILĂ NR.8,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(54) **NOI COMPUȘI MIMETICI AI STRIGOLACTONELOR,  
ȘI PROCEDEU DE UTILIZARE A ACESTORA  
CA BIOSTIMULANȚI PENTRU PLANTE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la compuși sintetici mimetici ai strigolactonelor, și la un procedeu de utilizare a acestora ca biostimulanți pentru plante de cultură cultivate în sistem conservativ. Compușii conform invenției au structura de 2-(4-metil-5-oxo-2,5-dihidrofuran-2-iloxi)-1,4-naftochinonă și 2-(4-metil-5-oxo-2,5-dihidrofuran-2-iloxi)-benzo[de]zochinolin-1,3-dionă. Procedeu conform invenției constă în aplicarea, ca tratament al

solului din zona rădăcinilor plantelor de porumb și floarea-soarelui, unei doze de 2,5 g/ha, prin stropire cu suspensie apoasă, echivalentul a 400 l/ha, la 3 săptămâni de la semănarea culturilor, având efecte de creștere a eficienței de utilizare a azotului, a toleranței la stres biotic și abiotic, și a calității recoltei.

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).



24

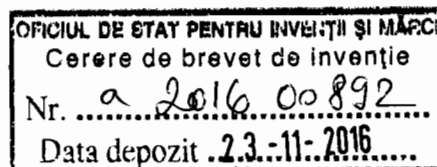
## NOI COMPUȘI MIMETICI STRIGOLACTONELOR ȘI PROCEDEU DE UTILIZARE A ACESTORA CA BIOSTIMULANȚI PENTRU PLANTE

Prezenta invenție se referă la noi compuși sintetici mimetici strigolactonelor și la un procedeu de utilizare a acestora ca biostimulanți pentru plante de cultură, în special pentru plantele cultivate în sisteme de agricultură conservativă.

Sunt cunoscuți diferiți compuși sintetici, analogi sau mimetici ai strigolactonelor, care sunt destinați unor utilizări variate în tehnologiile de cultivare a plantelor. Denumirea de strigolactone se referă la o serie de compuși caretonoidici sintetizați de rădăcinile plantelor, cu rol de exo- și endo-semnale, respectiv de kairomoni, semio-chimicale care mediază interacțiile inter-specifice din rizosferă, și de (fito)hormoni, care controlează procesele fiziologice din plante (Čavar et al. 2015, *Phytochemistry Reviews*, 14, 691-711). Datorită complexității strigolactonelor naturale și dificultății obținerii lor în cantități suficiente aplicării practice, au fost sintetizați compuși analogi, incluzând structura cu cele trei inele aromatice specifice strigolactonelor, sau mimetici, în care nu se regăsește neapărat eșafodajul celor trei inele aromatice, ci doar activitatea biologică specifică (Zwanenburg et al. 2016. *Planta*, 243, 1311-1326).

În anumite situații utilizările revendicate în practica agricolă exploatează numai caracteristicile de kairomoni / exo-semnale ale strigolactonelor. Un exemplu de brevet care revendică o utilizare derivată din rolul de kairomon al strigolactonelor este brevetul SUA 8101171 B2. Acesta se referă la utilizarea strigolactonelor naturale, strigol, alectrol, sorgolactone, orobanchol, sau a analogilor / mimeticilor lor sintetici GR7, GR24, Nijmegen1, dimetilsorgolactone, pentru intensificarea interacției simbiotice dintre ciupercile producătoare de endo-micorize (AM) și plantele cultivate. Brevetul revendică aplicarea repetată a strigolactonelor, dar nu exemplifică modalitatea concretă prin care se realizează această aplicare repetată. Brevetul SUA 9131685 B2 descrie amplificarea acțiunii de kairomon a unor analogi sintetici ai strigolactonelor, prin amestecarea acestora cu lipo-chito-oligozaharide (factor Nod / factor Myc), într-un raport molar care este, de preferat, între 0,05 și 100. Compoziția descrisă poate fi suplimentată cu spori de ciuperci de micoriză, rhizobii sau bacterii care stimulează creșterea plantelor, se condiționează sub formă lichidă sau pulverulentă, eventual împreună cu insecticide și/sau fungicide, și se aplică ca tratament la sămânță, tratament foliar sau al tulpinilor, prin tratament în brazdă sau prin irigarea solului (chemirigare).

În alte situații sunt revendicate utilizări agricole asociate funcției de fito-hormon a strigolactonelor. Brevetul FR 2930402 B1 prezintă un procedeu de utilizare a



strigolactonelor naturale sau a analogilor de strigolactone pentru a controla creșterea plantelor. Aplicarea se realizează prin injectarea unei cantități de cel puțin 1 nM, necesară pentru inhibarea a cel puțin unei ramificații, din următorii compuși: strigol; acetat de strigol; orobanchol; acetat de orobanchol; 5-deoxistrigol; sorgolactone; alectrol; 3-[[[(2,5-dihidro-3-metil-2-oxo-5-furanil)oxi]-metilen]-3,3a,6,6a-tetrahidro-ciclopenta[b]furan-2-one (GR7); 3-[[[(2,5-dihidro-3-metil-2-oxo-5-furanil)oxi]metilen]-3,3a,4,8b-tetrahidroindeno[1,2-b]furan-2-one (GR24); 2-(1-metilen-3-oxo-1,3-dihidroizoindol-2-il)-3-(4-metil-5-oxo-2,5-dihidro-furan-2-iloxi) metil acrilat (Nijmegen-1); dimetilsorgolactone, sau amestecuri ale acestora. Cererea de brevet EP 2248421 A1 revendică utilizarea 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.

Un aspect deosebit al funcției hormonale a strigolactonelor este cea asociată rolului acestor compuși în protecția plantelor față de factorii de stres biotici (Marzec, 2016, *Trends in Plant Science*, 21, 900-903) și abiotici (Van et al. 2014 *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111, 851-856). Cererea de brevet WO 2015061764 A1 protejează compuși mimetici strigolactonelor, aflați sub diferite forme, sau formulări ale acestor compuși mimetici, destinați utilizării pentru creșterea toleranței la secetă, mărirea rezistenței la patogeni și dăunători, creșterii producțiilor.

Au fost publicate și brevete / cereri de brevet prin care sunt protejate concomitent utilizări ale compușilor strigolacton-mimetici corespunzând dublei funcționalități a strigolactonelor. Brevetul SUA 8 980 795 B2 se referă la compuși mimetici strigolactonelor, obținuți prin sinteză biochimică *in vitro*, și la utilizările acestor compuși pentru: a determina germinarea suicidală a semințelor de buruieni parazite (în absența rădăcinilor plantelor gazdă / capcană pentru semințele buruienilor parazite), a regla ramificarea, înfrățirea și dezvoltarea rădăcinilor plantelor cultivate, ca și consolidarea cambiumului la aceste plante, creșterea hifelor ciupercilor de micoriză, precum și în realizarea unor compoziții care includ compușii respectivi, din categoria analogilor de strigolactone, împreună cu insecticide, fungicide și amestec de insecticide și fungicide.

Nu au fost descriși până în prezent în literatura de brevete compuși analogi sau mimetici de strigolactone, care să fie destinați utilizării ca biostimulanți pentru plante. Biostimulanții pentru plante sunt o nouă clasă de inputuri în tehnologiile agricole, care sunt aplicați pentru: creșterea eficienței de preluare și utilizare a nutrienților de către plantele de cultură, amplificarea toleranței la factorii de stres și îmbunătățirea calității recoltei (du Jardin, 2015, *Scientia Horticulturae*, 196, 3-14). Biostimulanții pentru plante sunt inputuri agricole cu o utilitate crescută în această perioadă, în care factorii de stres sunt amplificați de schimbările climatice.

De asemenea biostimulanții pentru plante sunt foarte utili pentru sistemele de agricultură conservativă. În astfel de sisteme lucrările solului sunt reduse, iar resturile vegetale sunt menținute pe sol pentru a reține apa și a recircula nutrienții. Astfel de sisteme, în pofida unor avantaje determinate de micșorarea consumurilor de combustibil și forță de muncă (aferele lucrărilor solului), de reducerea eroziunii solului și a spălării nutrienților, au și dezavantaje. Resturile vegetale, esențiale pentru a favoriza activitatea biologică, care determină o afânare biologică destinată să o înlocuiască pe cea mecanică realizată prin lucrările solului, au și efecte negative. Aceste resturi vegetale reduc temperatura solului și oferă condiții bune pentru dezvoltarea fitopatogenilor din sol (Bockus și Shroyer, 1998, *Annual Review of Phytopathology*, 36, 485-500). De asemenea resturile vegetale de pe sol reduc biodisponibilitatea azotului pentru primele faze de vegetație, datorită dinamicii diferite de mineralizare a carbonului și a azotului (Geisseler *et al.*, 2010, *Soil Biology and Biochemistry*, 42, 2058-2067). Biostimulanții pentru plante cresc toleranța plantelor la factorii de stres și deci ar contracara dezavantajele determinate de reducerea temperaturii solului și riscul fitosanitar crescut. Creșterea eficienței de utilizare a nutrienților ar compensa reducerea biodisponibilității azotului.

Strigolactonele au o serie de efecte fiziologice, directe / mediate sau indirecte / mediate de microorganismele benefice, care le fac foarte adecvate pentru a acționa ca biostimulanți pentru plante. Strigolactonele orchestrează alocarea nutrienților în plante (Umehara, 2011, *Plant Biotechnology*, 28, 429-437). Implicarea acestor compuși în protecția plantelor față de factorii de stres biotici (Marzec, 2016, *Trends in Plant Science*, 21, 900-903) și abiotici (Van *et al.* 2014 *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111, 851-856) reprezintă baza pentru acțiunea de amplificare a toleranței la factorii de stres. Strigolactonele stimulează formarea micorizelor, iar simbiozele micorizale cresc calitatea recoltei (Rozpadek *et al.* 2016, *Plant Physiology and Biochemistry* 107, 264-272; Rydlová *et al.* 2016, *Mycorrhiza*, 26, 123-131). Deși toate aceste caracteristici descrise pentru strigolactone / compuși sintetici analogi sau mimetici reprezintă un suport

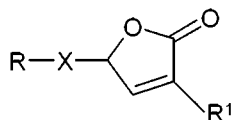
semnificativ de susținere a acțiunii de biostimulant pentru strigolactone, nu au fost încă publicate brevete / cereri de brevet prin care să se revendice astfel de proprietăți sau utilizări.

Un dezavantaj al compușilor analogi / mimetici de strigolactone descriși până în prezent este determinat de dificultatea sintezei lor chimice și de instabilitatea lor ridicată în suspensii apoase (Zwanenburg et al. 2016, *Pest Management Science*, 72, 15-29). Sunt necesari compuși mimetici strigolactonelor mai ușor de sintetizat și cu o stabilitate mai ridicată în suspensii apoase.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este de a descrie noi compuși mimetici strigolactonelor, care să fie relativ ușor de sintetizat, din precursori și intermediari accesibili, și care să acționeze ca biostimulant pentru plante, în special pentru cele cultivate în sisteme de agricultură conservative.

Este un alt obiect al acestei invenții de a descrie utilizarea acestor compuși ca biostimulanți pentru plante, în special pentru cele cultivate în sisteme de agricultură conservativă.

Compușii sintetici mimetici ai strigolactonelor conform invenției sunt reprezentați prin formula generală I,



I

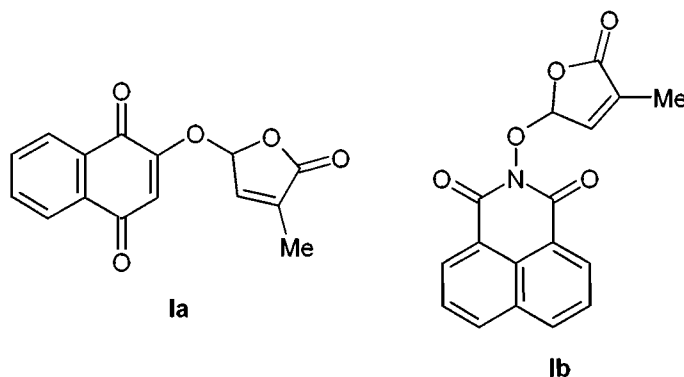
în care:

X este un atom de O sau o grupă NH

R este radical 1,4-naftochinon-2-il, 1,4-naftochinon-5-il, 1,8-naftalimidoil, N-aminoftalimidoil sau o grupă N-aminoftalimidoil mono sau disubstituită cu grupe amino sau halogen

R<sup>1</sup> este o grupă alchil C1-C4, trifluorometil, nitro, carboxil sau carboxil substituit cu o grupă alchil C1-C4, sau un atom de halogen.

Compușii conform invenției sunt de preferință compușii reprezentați prin formula Ia în care R este un ciclu 1,4-naftochinon-2-il, X este sau atom de oxigen iar R<sup>1</sup> este un radical metil, sau prin formula Ib în care R este un ciclu heteroaromatic 1,8-naftalimidoil, X este sau atom de oxigen iar R<sup>1</sup> este un radical metil.



Compușii sintetici cu o structură mimetică strigolactonelor conform invenției sunt caracterizați prin aceea că determină efecte specifice de biostimulant pentru plantele de porumb și floarea-soarelui cultivate în sistem conservativ, respectiv: creșterea eficienței de utilizare a azotului, care conduce la o acumulare superioară de proteine totale în boabele de porumb și în semințele de floarea-soarelui; amplificarea toleranței la factorii de stres abiotici, respectiv stresul hidric, și biotici, respectiv agenții patogeni din sol care atacă tulpinile; îmbunătățirea calității recoltei de porumb, prin acumulare superioară de triptofan și tocoferol în boabe, și de floarea-soarelui, prin acumulare superioară de acid oleic și tocoferol în semințe.

Compușii conform invenției prezintă următoarele avantaje:

- ✓ Sunt relativ ușor de sintetizat, în cantități semnificative datorită unui număr mai redus de etape de sinteză și datorită unor materii prime și intermediari accesibili.
- ✓ Au o stabilitate mai mare în timp și în soluții apoase.
- ✓ Au efecte de biostimulant pentru plantele de cultură, respectiv creșterea eficienței de utilizare a azotului, mărirea toleranței la stresurile biotice și abiotice și creșterea calității recoltei, la concentrații foarte mici.

În continuare se prezintă exemple nelimitative de realizare a invenției.

*Exemplul 1. Sintezele analogilor de strigolactonă*

*Exemplul 1a. Sinteza 2-(4-metil-5-oxo-2,5-dihidrofuran-2-iloxi)-1,4-naftochinonei 1a*

La o soluție care conține 1,75 g (10 mmoli) 2-hidroxi-1,4-naftochinonă (de la Sigma Aldrich, St. Louis, SUA) dizolvată în 15 mL DMF s-au adăugat 1,52 g (11 mmol)  $K_2CO_3$  și s-au dozat sub agitare la temperatura camerei 2,21 g (12.5 mmol) 5-bromo-3-metil-5H-furan-2-onă brută, obținută prin bromurarea 3-metil-5H-furan-2-onei conform metodei descrise de G. A. MacAlpine, R.A. Raphael, A. Shaw, A. W. Taylor, H.-J. Wild, *J. Chem. Soc. Chem. Perkin Trans. I*, **1976**, 410–416. Amestecul s-a agitat în continuare 24 ore la temperatura camerei, apoi s-a turnat în 80 mL apă și s-a extras cu 3 x 75 mL  $CH_2Cl_2$ . Extractele combinate s-au uscat pe  $Na_2SO_4$  anh. Solventul s-a evaporat parțial sub

presiune redusa și s-a filtrat precipitatul format obținând-se 0,91 g (randament 34%) cristale bej, cu p.t. = 153-155°C.

Analiza elementară pentru 2-(4-metil-5-oxo-2,5-dihidrofuran-2-iloxi)-1,4-naftochinona C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub> (270,24): calculat: C, 66,67; H 3,73 %; găsit: C 66,70 %; H 4,76 %. IR (ν<sub>max</sub>, cm<sup>-1</sup>): 1785, 1679, 1657, 1611, 1593, 1445, 1349, 1303, 1266, 1244, 1205, 1091, 1017. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 2,04 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 6,35 (1H, s, CH-2 din furanonă), 6,62 (1H, s, CH chinonă), 7,12 (1H, s, CH-3 din furanonă), 7,74-8.13 (4H, CH din naftochinolină)

*Exemplul 1b. Sinteza 2-(4-metil-5-oxo-2,5-dihidro-furan-2-iloxi)-benzo[de]isoquinolin-1,3-dionei Ib*

La o soluție care conține 2,14 g (10 mmoli) de N-hidroxi-1,8-naftalinimidă (de la Alfa Aesar, Thermo Fisher Scientific, Heysham, Marea Britanie) dizolvată în 15 mL DMF s-au adăugat 1,52 g (11 mmol) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> și s-au dozat sub agitare la temperatura camerei 2,21 g (12.5 mmol) 5-bromo-3-metil-5H-furan-2-onă brută, obținută prin bromurarea 3-metil-5H-furan-2-onei conform metodei descrise de G. A. MacAlpine, R.A. Raphael, A. Shaw, A. W. Taylor, H.-J. Wild, *J. Chem. Soc. Chem. Perkin Trans. I*, **1976**, 410–416. Amestecul s-a agitat în continuare 24 ore la temperatura camerei, apoi s-a turnat în 80 mL apă și s-a extras cu 3 x 75 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Extractele combinate s-au uscat pe Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anh. Solventul s-a evaporat parțial sub presiune redusa și s-a filtrat precipitatul format obținând-se 2,37 g (randament 77%) cristale bej, cu p.t. = 234-236 °C.

Analiza elementară pentru 2-(4-metil-5-oxo-2,5-dihidro-furan-2-iloxi)-benzo[de]isoquinolin-1,3-diona C<sub>17</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>5</sub> (309,28): calculat: C 66,02 %; H 3,58 %; N 4,53 %; găsit: C 66,06 %, H 3,61 %, N 4,50 %. IR (ν<sub>max</sub>, cm<sup>-1</sup>): 1789, 1726, 1688, 1583, 1355, 1341, 1231, 1188, 1097, 1016. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 2.03 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 6.49 (1H, s, CH-2 din furanonă), 7.18 (1H, s, CH-3 din furanonă), 7.80-8.65 (6H, CH din izochinolina)

*Exemplul 2. Testarea activității de biostimulant a compușilor mimetici strigolactonelor.*

Experimentul s-a realizat în anul agricol 2016, pe loturi experimentale de 25 m<sup>2</sup>, la Fundulea, (44°27'45" latitudine nordică și 26°31'35" longitudine estică), pe culturi de porumb și de floarea-soarelui. A fost urmărită activitatea de biostimulant pentru plante a compușilor mimetici strigolactonelor prin determinarea efectelor tratamentelor cu compuși realizați conform Exemplu 1 asupra: (i) creșterii și dezvoltării plantelor în primele faze de vegetație, estimate prin determinarea LAI (*leaf-area index*, indicele suprafeței foliare); (ii) eficienței de utilizare a azotului, prin determinarea nivelului de proteină acumulat în recoltă (boabe de porumb, semințe de floarea-soarelui); (iii) creșterea toleranței la stres, prin

determinarea conductanței stomatale și prin estimarea gradului de atac al unor boli produse de agenții fitopatogeni fungici; (iv) îmbunătățirea calității recoltei, prin determinarea conținutului de tocoferol în recolta de porumb și de floarea-soarelui, ca și a celui de triptofan la porumb și de acid oleic la floarea soarelui.

Tab. 1. Caracteristicile cernoziomului cambic din câmpul experimental de la Fundulea.

Caracteristică	UM	Ap	Aph
Adâncime orizont	cm	0-18	18-30
Humus (C x 1,72)	%	3,0	3,0
Total N	%	0,179	0,169
C : N	-	11,4	11,8
CaCO <sub>3</sub>	%	0,0	0,0
pH (în H <sub>2</sub> O)	pH unit	6,3	6,5
Capacitatea totală de schimb cationi, CEC	meq/100g	21,1	21,3
Fosfor total (AL)	ppm	28	14
Potasiu mobil	ppm	98	87

Solul din loturile experimentale este un cernoziom cambic, dezvoltat pe rocă parentală loess. Caracteristicile sunt prezentate în tabelul 1. În zona experimentală de la Fundulea (Câmpia Română) temperatura medie multianuală atmosferică este de 10,25°C, iar precipitațiile anuale însumează 571 mm. Din punct de vedere al temperaturilor anul agricol 2016 a prezentat variații, cu o primăvară și o vară mai calde decât normal și cu deficit de precipitații mai mare de 100 mm pe perioada de vegetație a celor două culturi pe care s-au realizat experimente, porumb și floarea-soarelui. Solul a fost fertilizat cu 200 kg/ha echivalent îngrășământ complex NPK 15:15:15 (Azomureș, Târgu-Mureș, România) înainte de însămânțare. Au fost aplicate tehnologii de lucru conservative, cu eliminarea arăturii cu întoarcerea brazdei. Cultura de porumb a fost semănată pe data de 22.04.2016, iar cea de floarea-soarelui pe data de 08.04.2016. S-au folosit hibridii P8523-FAO270 (Pioneer - DuPont, Afumați, România) și Talento (Syngenta, Basel, Elveția). Au fost realizate tratamente cu 2-(4-metil-5-oxo-2,5-dihidrofuran-2-iloxi)-1,4-naftochinonă (compus **Ia**) și cu 2-(4-metil-5-oxo-2,5-dihidro-furan-2-iloxi)-benzo[de]isoquinolin-1,3-dionei (compus **Ib**), aplicați ca tratament al solului din zona rădăcinilor plantelor, în doză echivalentă la 2,5 g/ha, aplicați prin stropirea cu suspensie apoasă, echivalent 400 litri/ha, la 3 săptămâni de la semănarea culturilor.

Variantele experimentale, ce au inclus și un martor netratat, cu management conservativ, și un martor netratat, cu management intensiv, au fost realizate în 4 repetiții și amplasate în blocuri randomizate. Culturile au fost menținute conform recomandărilor de



agrotehnică conservativă pentru zona Fundulea / Câmpiei Române (Cociu și Cizmaș 2013, *Romanian Agricultural Research*, 30, 171-181). S-au aplicat tratamente de combatere a buruienilor (prin erbicidare) și de combatere a bolilor și dăunătorilor din sol (prin tratament la sămânță). La martorul cu tratament intensiv s-au aplicat aceleași tratamente de fertilizare și de protecția plantelor ca și la variantele la care s-a aplicat tehnologia conservativă.

Indicele de vegetație a fost determinat în fenofazele 2 (opt frunze complet formate) și 2,5 (zece frunze complet formate) la porumb, și 16 (6 frunze desfășurate) și 17 (7 frunze desfășurate) la floarea soarelui. La aceste fenofaze inițiale este cel mai pregnant fenomenul de întârziere în dezvoltarea plantelor de cultură determinat de practicile conservative (solul mai rece, datorită acoperirii cu resturi vegetale și indisponibilizarea azotului). Determinarea indicelui de vegetație s-a realizat cu ajutorul unui echipament AccuPAR LP-80 Ceptometer (Decagon Devices, Pullman, WA, SUA). În timpul aceluiași fenofaze s-a realizat și o determinare a conductanței stomatale, cu un porometru AP4 (Delta-T Devices, Cambridge, Marea Britanie), și o estimare a bolilor tulpinii produse de agenții fitopatogeni de sol, *Fusarium* spp. (porumb) și *Sclerotinia* spp. (floarea-soarelui), a căror dezvoltare este favorizată de resturile vegetale menținute pe sol în cadrul sistemelor de agricultură conservativă.

În recolta de porumb și de floarea-soarelui a fost determinat conținutul de proteină totală (prin determinarea azotului total conform metodei Kjeldahl descrisă de standardul ISO 20483:2013). În probele de porumb a fost determinat colorimetric conținutul de triptofan legat de proteinele din porumb (Nurit et al. 2009, *J. Agric. Food Chem.* 57, 7233-7238), iar în cele de floarea-soarelui s-a determinat conținutul de acid oleic (Kowalski 2007, *Acta Chromatographica*, 18, 15).

Conținutul de triptofan legat de proteine este un indicator de calitate al boabelor de porumb, care este influențat de practicile agronomice (Mason și D'Croz-Mason, 2002, *J. Crop Prod.*, 5, 75-91). La fel, conținutul de acid oleic este un indicator al calității semințelor (achenelor) de floarea-soarelui, care este de asemenea influențat de practicile agronomice, în special de cele care modifică activitatea oleat-desaturazei (Flagella et al. 2002, *Eur. J. Agron.*, 17, 221-230).

În uleiul de germeni de porumb și în cel de floarea-soarelui, obținut prin extracție la Soxhlet, a fost determinat conținutul de tocoferol, printr-o tehnică lichid cromatografică (Kurilich și Juvik, 1999, *J. Liquid Chromat.* 22, 2925-2934).

Rezultatele experimentului sunt prezentate în tabelele 2 și 3 de mai jos.

Tab. 2. Influenta compuşilor mimetici strigolactonelor descrişi în această invenţie asupra unor caracteristici ale plantelor de porumb (cv. P8523-FAO270)

Varianta experimentală	Indice vegetaţie (m <sup>2</sup> /m <sup>2</sup> )		Conductanţă stomatală (mmol/m <sup>2</sup> *s)		Grad atac <i>Fusarium</i> tulpină (%)		Conţinut proteină totală (% s.u.)	Conţinut triptofan (mg/g s.u.)	Conţinut tocoferol (mg/ kg ulei)
	F2	F2.5	F2	F2.5	F2	F2.5			
Martor intensiv	3,4	4,2	732	712	2,4	3,6	10,5	54,7	122
Martor conservativ	2,6	3,5	748	652	6,8	8,4	10,1	58,2	129
Compus Ia echiv. 2,5 g/ha	3,3	4,3	804	854	3,2	3,4	11,4	74,6	185
Compus Ib echiv. 2,5 g/ha	3,5	4,4	827	878	2,8	3,5	11,3	82,3	168

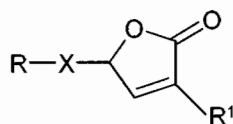
Tab. 3. Influenta compuşilor mimetici strigolactonelor descrişi în această invenţie asupra unor caracteristici ale plantele de floarea-soarelui (cv. Talento)

Varianta experimentală	Indice vegetaţie (m <sup>2</sup> /m <sup>2</sup> )		Conductanţă stomatală (mmol/m <sup>2</sup> *s)		Grad atac <i>Sclerotinia</i> tulpină (%)		Conţinut proteină totală (% s.u.)	Conţinut acid oleic (%)	Conţinut tocoferol (mg/ kg ulei)
	F16	F17	F16	F17	F16	F17			
Martor intensiv	2,8	3,4	434	375	2,7	3,2	20,2	64,4	334
Martor conservativ	2,2	2,7	478	454	5,2	7,1	18,6	68,5	367
Compus Ia echiv. 2,5 g/ha	2,7	3,3	504	542	2,5	2,7	22,6	76,3	423
Compus Ib echiv. 2,5 g/ha	2,6	3,3	497	527	2,4	2,5	21,2	73,6	437

Rezultatele obţinute în cadrul experimentului dovedesc activitatea de biostimulant pentru plante a compuşilor mimetici strigolactonelor. Ambii compuşi determină o stimulare a creşterii şi dezvoltării în primele faze de vegetaţie ale plantelor de porumb şi de floarea-soarelui, cultivate în sistem conservativ. Eficienţa de preluare a azotului este semnificativ crescută, boabele de porumb şi seminţele de floarea-soarelui acumulând mai multă proteină totală comparativ cu martorii. Toleranţa la factorii de stres abiotici şi biotici este crescută, crescând conductanţa stomatală (direct legată de rezistenţa la stresul hidric) şi reducându-se gradul de atac al agenţilor fitopatogeni de sol care produc boli ale tulpinilor. Calitatea recoltei creşte, pentru că se acumulează mai mult triptofan în porumb, acid oleic în floarea-soarelui şi tocoferol anti-oxidant în uleiul de germeni de porumb şi de floarea-soarelui.

## Revendicări

1. Compuși sintetici analogi ai strigolactonelor conform invenției reprezentăți prin formula generală I,



I

în care:

X este un atom de O sau o grupă NH

R este radical 1,4-naftochinon-2-il, 1,4-naftochinon-5-il, 1,8-naftalimidoil, N-aminoftalimidoil sau o grupă N-aminoftalimidoil mono sau disubstituită cu grupe amino sau halogen

R<sup>1</sup> este o grupă alchil C1-C4, trifluorometil, nitro, carboxil sau carboxil substituit cu o grupă alchil C1-C4, sau un atom de halogen.

2. Compușii sintetici cu structură mimetică strigolactonelor conform revendicării 1, au de preferință structură de 2-(4-metil-5-oxo-2,5-dihidrofuran-2-iloxi)-1,4-naftochinonă și 2-(4-metil-5-oxo-2,5-dihidro-furan-2-iloxi)-benzo[de]isoquinolin-1,3-dionă.

3. Compuși sintetici cu o structură mimetică strigolactonelor conform revendicării 1, caracterizați prin aceea că determină efecte specifice de biostimulant pentru plantele de porumb și floarea-soarelui cultivate în sistem conservativ, respectiv: creșterea eficienței de utilizare a azotului, care conduce la o acumulare superioară de proteine totale în boabele de porumb și în semințele de floarea-soarelui; amplificarea toleranței la factorii de stres abiotici, respectiv stresul hidric, și biotici, respectiv agenții patogeni din sol care atacă tulpinile; îmbunătățirea calității recoltei de porumb, prin acumulare superioară de triptofan și tocoferol în boabe, și de floarea-soarelui, prin acumulare superioară de acid oleic și tocoferol în semințe.