



MD 4693 B1 2020.05.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4693** (13) **B1**
(51) Int.Cl: *A01C 1/06* (2006.01)
A01N 63/20 (2020.01)
C12N 1/20 (2006.01)
A01P 21/00 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

In termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2019 0009 (22) Data depozit: 2019.02.26	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2020.05.31, BOPI nr. 5/2020
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: TROFIM Alina, MD; BULIMAGA Valentina, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

(54) Procedeu de tratare a semințelor înainte de semănat

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la biotehnologie și agricultură, în special la un procedeu de tratare a semințelor înainte de semănat cu utilizarea unor stimulatori de creștere a plantelor produși de cianobacterii și poate fi utilizată la cultivarea gramineelor, plantelor aromatice, leguminoaselor.

Procedeul, conform invenției, include tratarea semințelor timp de 24 de ore cu soluție apoasă a lichidului cultural, obținută prin cultivarea cianobacteriei *Nostoc halophilum* pe

2
mediul Drew sau a cianobacteriei *Spirulina platensis* pe mediul Zarrouk modificat, la temperatura de 25-30°C și iluminarea de 2500-3500 lx, timp de 20 de zile, separarea biomasei de lichidul cultural prin filtrare și diluarea filtratului de 2 și, respectiv, de 10 ori.

Rezultatul tehnic al invenției constă în majorarea procentului de germinare a semințelor până la 90-100%.

Revendicări: 1

MD 4693 B1 2020.05.31

(54) Process for presowing treatment of seeds**(57) Abstract:**

1

The invention relates to biotechnology and agriculture, in particular to a process for presowing treatment of seeds using plant growth stimulants from cyanobacteria and can be used in the cultivation of cereals, aromatic, leguminous plants.

The process, according to the invention, comprises treating the seeds for 24 hours with an aqueous solution of culture fluid obtained by cultivating the *Nostoc halophilum* cyanobacterium on Drew medium or *Spirulina platensis* cyanobacterium on Zarrouk modified

2

medium at a temperature of 25-30°C and lighting of 2500-3500 lux, for 20 days, separating the biomass from the culture fluid by filtration and diluting the filtrate 2 and 10 times, respectively.

The technical result of the invention consists in increasing the seed germination percentage to 90-100%.

Claims: 1

(54) Способ предпосевной обработки семян**(57) Реферат:**

1

Изобретение относится к биотехнологии и сельскому хозяйству, в частности к способу предпосевной обработки семян с использованием стимуляторов роста растений из цианобактерий и может быть использовано при культивировании злаковых, ароматических, бобовых растений.

Способ, согласно изобретению, включает обработку семян в течение 24 часов водным раствором культуральной жидкости, полученным путем культивирования цианобактерии *Nostoc*

2

halophilum на среде Drew или цианобактерии *Spirulina platensis* на модифицированной среде Zarrouk при температуре 25-30°C и освещении 2500-3500 люкс в течение 20 дней, отделения биомассы от культуральной жидкости фильтрованием и разбавления фильтрата в 2 и соответственно в 10 раз.

Технический результат изобретения заключается в увеличении процента всхожести семян до 90-100%.

П. формулы: 1

Descriere:

Invenția se referă la biotehnologie și agricultură, în special la un procedeu de tratare a semințelor înainte de semănat cu utilizarea unor stimulatori de creștere a plantelor produși de cianobacterii și poate fi utilizată la cultivarea gramineelor, plantelor aromatice, leguminoaselor.

Este cunoscut un procedeu de tratare a semințelor cu filtratele diferitor specii de cianobacterii care are un efect de stimulare a germinării semințelor. Înainte de germinare semințele au fost sterilizate la suprafață prin înmuiere timp de 30 de minute în soluție de hipoclorit de sodiu de 2,5%, clătite de mai multe ori cu apă distilată. Apoi, cele 20 de semințe sterilizate au fost menținute în filtratele de cianobacterii timp de 18 ore și apoi s-au transferat în cești Petri cu două foi de hârtie de filtru umezite cu 10 ml de apă distilată. Semințele au fost lăsate pentru germinare la întuneric la 25°C și udate zilnic cu 2 ml de apă distilată timp de 6 zile [1]. Rezultatele demonstrează efectul stimulator al germinării semințelor tratate cu filtratele speciilor *A. oryzae* și *Synechococcus sp.*, procentajul de germinare al semințelor constituind valori mai înalte cu 30% și 26%, respectiv, în comparație cu cel al probei de semințe tratate cu apă distilată.

Neajunsul acestui procedeu constă în faptul că la utilizarea filtratelor de cianobacterii ponderea germinării semințelor nu este suficient de înaltă în comparație cu proba de referință (cu 26% și 30%). Alt dezavantaj este modul de preparare a filtratelor, unde înainte de tratare se efectuează dializa, ceea ce reduce cantitatea nutrienților cu masă moleculară mică (aminoacizi, giberiline, etc) și umezirea cu apă distilată, care este demineralizată și utilizarea căreia sporește cheltuielile în agricultură.

Cel mai apropiat după esența tehnică și rezultatul obținut este un procedeu de tratare a semințelor, care constă în utilizarea filtratelor a patru specii de cianobacterii *Anabaena variabilis*, *Nostoc muscorum*, *Aulosira fertilissima* și *Tolypothrix tenuis*. În a 21-a zi de cultivare a cianobacteriilor, filtratele au fost separate de biomasă prin centrifugare. Înainte de tratare semințele au fost sterilizate la suprafață utilizând soluția 0,1% de HgCl₂ timp de 5 minute, urmată de câteva spălări cu apă distilată timp de aproximativ o oră. Au fost selectate 20 de semințe, plasate ulterior în cești Petri pe 0,5% de agar la care s-a adăugat câte 10 ml din diferite filtrate. Rezultatele au demonstrat că un efect maxim a fost obținut la utilizarea filtratelor combinate de la toate patru culturi de cianobacterii (95% de germinare a semințelor), iar la utilizarea filtratelor de la o singură tulpină procentul germinării este mai redus (70 - 81,66%) [2].

Dezavantajul acestui procedeu constă în procentul insuficient de înalt al germinării semințelor și necesitatea utilizării filtratelor de la 4 tulpini de cianobacterii, ceea ce induce mari cheltuieli în utilizarea procedurii. De asemenea, procedeul dat utilizează substanța nocivă (0,1% de HgCl₂), ceea ce este o piedică pentru obținerea produselor agricole bio.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui procedeu de tratare a semințelor înainte de semănat, care ar asigura un efect maxim de germinare a semințelor, ar fi inofensiv pentru produsele agricole și ar reduce cheltuielile din agricultură.

Procedeul, conform invenției, include tratarea semințelor timp de 24 de ore cu soluție apoasă a lichidului cultural, obținută prin cultivarea cianobacteriei *Nostoc halophilum* pe mediul Drew sau a cianobacteriei *Spirulina platensis* pe mediul Zarrouk modificat, ce conține, g/l: NaNO₃ 2,25, NaHCO₃ 8,0, NaCl 1,0, K₂SO₄ 0,3, Na₂HPO₄ 0,2, MgSO₄·7H₂O 0,2, CaCl₂ 0,024, H₃BO₃ 0,00286, MnCl₂·4H₂O 0,00181, CuSO₄·5H₂O 0,00008, MoO₃ 0,000015, FeEDTA 1 ml/l, la temperatura de 25-30°C și iluminarea de 2500-3500 lx, timp de 20 de zile, separarea biomasei de lichidul cultural prin filtrare și diluarea filtratului de 2 și, respectiv, de 10 ori.

Rezultatul tehnic al invenției constă în majorarea procentului de germinare a semințelor, comparativ cu soluția cea mai apropiată. Procentul germinării semințelor tratate cu filtratul cultural obținut de la cultivarea *Spirulina platensis*, diluat de 10 ori este de 100%, iar la tratarea cu filtratul cultural obținut de la cultivarea *Nostoc halophilum* diluat de 2 ori – 90%, fiind mai mare în comparație cu soluția cea mai apropiată (70-81,66%).

Rezultatul tehnic al invenției este cauzat de prezența în filtratele obținute a giberelinelor și a aminoacizilor, precum și a altor substanțe biostimulatoare.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1

Stimularea germinării semințelor de floarea soarelui și dovleac se efectuează cu utilizarea filtratului rezultat din cultivarea cianobacteriei *Spirulina platensis* timp de 20 zile pe mediul de cultivare Zarrouk modificat cu următoarea componență: NaNO₃ 2,25 g/l; NaHCO₃ 8,0g/l; NaCl 1,0g/l; K₂SO₄ 0,3 g/l; Na₂HPO₄ 0,2 g/l; MgSO₄·7 H₂O 0,2 g/l; CaCl₂ 0,024g/l; soluția de microelemente 1 ml/l (H₃BO₃ 2,86 mg/l; MnCl₂·4H₂O 1,81 mg/l; CuSO₄·5H₂O 0,08 mg/l; MoO₃

0,015 mg/l); FeEDTA 1 ml/l, la iluminarea de 3500 lx și temperatura de 25-30°C. La a 20 zi de cultivare biomasa se colectează prin filtrare, iar filtratul cultural rezidual este diluat de 10 ori. Cu această soluție se tratează un lot de 100 semințe de floarea soarelui sau dovleac. Semințele selectate uscate sunt plasate în cești Petri pe substrat poros și tratate timp de 24 ore cu câte 10-15 ml de soluție per 20 semințe, apoi în următoarele 3 zile sunt umectate cu apă și ținute la întuneric pe întreaga perioadă. Procentul germinării semințelor tratate cu filtratul cultural obținut de la cultivarea *Spirulina platensis*, diluat de 10 ori este de 100%, pe când în lotul martor, tratat cu apă, ponderea maximă a germinării este de 60-70 %, iar conform celei mai apropiate soluții de 70-81,66%.

10 Exemplul 2

Stimularea germinării semințelor de floarea soarelui și dovleac se efectuează cu utilizarea filtratului rezultat din cultivarea cianobacteriei *Nostoc halophilum* pe mediul Drew timp de 20 zile, la iluminarea de 2500 lx și temperatura de 25-30°C.

15 După separarea biomasei, filtratul cultural rezidual este diluat de 2 ori. Cu această soluție se tratează un lot de 100 semințe de floarea soarelui sau dovleac. Semințele selectate uscate sunt plasate în cești Petri pe substrat poros și tratate timp de 24 ore cu câte 10-15 ml de soluție per 20 semințe, apoi în următoarele 3 zile sunt umectate cu apă și ținute la întuneric pe întreaga perioadă. Rezultatele au demonstrat un efect maxim asupra germinării semințelor de floarea soarelui și dovleac de 90,0%, pe cand in lotul martor, tratat cu apă, ponderea maximă a germinării este de 60-70%, iar conform celei mai apropiate soluții de 70,00 - 81,66%.

20 Avantajele aplicării invenției constau în majorarea procentului de germinare al semințelor și valorificarea deșeurilor lichide din producerea biomasei de cianobacterii și obținerea produselor agricole bio.

(56) Referințe bibliografice citate in descriere:

1. Essa A.M.M., Ibrahim W.M., Mahmud R.M., ElKassim N.A. Potential impact of cyanobacterial exudates on seed germination and antioxidant enzymes of crop plant seedlings. *Internasional Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2015, v. 4(6), p. 1010-1024
2. Kumar A., Kaur R. Impact of cyanobacterial filtrate on seed germination behaviour of wheat. *International Journal of Basic and Applied Biology*, 2014, v. 1(1), p. 11-15

(57) Revendicări:

Procedeu de tratare a semințelor înainte de semănat, care include tratarea semințelor timp de 24 de ore cu soluție apoasă a lichidului cultural, obținută prin cultivarea cianobacteriei *Nostoc halophilum* pe mediul Drew sau a cianobacteriei *Spirulina platensis* pe mediul ce conține, g/l: NaNO₃ 2,25, NaHCO₃ 8,0, NaCl 1,0, K₂SO₄ 0,3, Na₂HPO₄ 0,2, MgSO₄·7H₂O 0,2, CaCl₂ 0,024, H₃BO₃ 0,00286, MnCl₂·4H₂O 0,00181, CuSO₄·5H₂O 0,00008, MoO₃ 0,000015, FeEDTA 1 ml/l, la temperatura de 25-30°C și iluminarea de 2500-3500 lx, timp de 20 de zile, separarea biomasei de lichidul cultural prin filtrare și diluarea filtratului de 2 și, respectiv, de 10 ori.