



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2010 01378**

(22) Data de depozit: **21/12/2010**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/09/2016** BOPI nr. **9/2016**

(41) Data publicării cererii:
29/06/2012 BOPI nr. **6/2012**

(73) Titular:

- **FUNDAȚIA SAPIENȚIA - UNIVERSITATEA SAPIENȚIA, STR.MATEI CORVIN NR.4, CLUJ-NĂPOCA, CJ, RO;**
- **INSTITUTUL DE CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU PROTECȚIA PLANTELOR, BD.ION IONESCU DE LA BRAD NR.8, SECTOR 1, 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;**
- **DINU SORINA, BD.ION IONESCU DE LA BRAD NR.8, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;**
- **CONSTANTINESCU FLORICA, STR.EMANOIL PORUMBARU NR.67, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;**

- **MESZAROS ALEXANDRU, ALEEA CIOCĂRLIEI NR.9, SC.B, AP.19, MIERCUREA CIUC, HR, RO;**
- **MATE SZILARD, STR.KOSSUTH LAJOS NR.17/4, MIERCUREA CIUC, HR, RO;**
- **SZABOLCS LANYI ȘTEFAN, STR.MIKO NR.21, MIERCUREA CIUC, HR, RO;**
- **LĂCĂTUȘU RADU, ȘOS.NICOLAE TITULESCU NR.10, BL.20, SC.B, AP.74, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;**
- **BURILEANU STANCIU MIHAELA MONICA, STR.IVAN PETROVICI PAVLOV NR.94, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;**
- **LUNGU MIHAELA, STR.SIRENELOR NR.17, AP.1, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:

KR 20090055379 (A); CN 101054564 (A); CN 101347074 (A)

(54) **PROCEDEU DE BIOFORTIFIERE CU SELENIU A RECOLTEI DE GRÂU**



RO 127511 B1

1 Inventția se referă la un procedeu de biofortifiere cu seleniu, care se aplică la cultura
grâului, fiind destinat creșterii valorii nutritive a recoltei de grâu provenite din zonele cu deficit
3 de seleniu în sol.

Sunt cunoscute mai multe procedee de biofortifiere cu seleniu a recoltei diferitelor
5 plante de cultură, inclusiv grâu. Aceste procedee implică aplicarea diferitelor compoziții, pe
bază de diferiți compuși ai seleniului, în diferite stadii de vegetație, pentru creșterea nivelului
7 de seleniu în recolta utilă. Procedeele și compozițiile dezvoltate au ca scop suplimentarea
cu seleniu a lanțului alimentar din zonele cu deficit de seleniu, și sunt destinate rezolvării pro-
9 blemelor tehnice rezultate din necesitatea aplicării foarte precise și uniforme a unor doze mici
de compuși foarte toxici. Cererea internațională de brevet **WO 99/29639** descrie o combina-
11 ție de sare solubilă de seleniu (selenit, 6...36 g) și de uree (20...40 kg/ha). Această combina-
ție este destinată aplicării foliare, și are rolul de a asigura concomitent suplimentarea nutriției
13 cu seleniu și cu azot. Tratamentul foliar cu această compoziție, diluată în volumul de apă
corespunzător normelor de aplicare, permite distribuirea uniformă a dozelor mici de compuși,
15 dar cercetările efectuate (trecute recent în revistă de **Zu ș.a., 2009, Trends in Plant
Science, 14, 436-442**) au arătat că selenitul aplicat foliar are o rată mică de translocare în
17 recolta utilă (boabele) de grâu.

Brevetul **US 6058648** se referă la o compoziție pe bază de săruri solubile de seleniu
19 (de exemplu, selenat de sodiu) și polimeri hidrosolubili (de exemplu, amestec de poliacetat
de vinil/dextrină sau copolimer de acetat de vinil/etilenă), destinată tratării semințelor. Aplica-
21 rea ca tratament al seminței permite, de asemenea, o distribuire uniformă a unor doze mici
de produs, iar selenatul aplicat radicular este translocat prin floem și se acumulează sub
23 formă de compuși organo-seleniați în bobul de grâu format din plante astfel tratate. Însă sele-
natul de sodiu afectează germinația semințelor unora dintre varietățile de plante cultivate
25 (inclusiv a celor de grâu), ca și creșterea și dezvoltarea sistemului radicular. De asemenea,
selenatul aplicat ca tratament al seminței poate influența eficacitatea produselor de protecția
27 plantelor aplicate ca tratament la sămânță.

Pentru a reduce fenomenele de fitotoxicitate asociate aplicării formelor solubile de
29 seleniu, cererea de brevet **WO 2009/111986** revendică prepararea unei nanostructuri de
fertilizant seleniat cu eliberare controlată. Procedeu de preparare implică amestecul unei roci
31 carbono-silicioase, care conține 30...95% nanoparticule, și în care conținutul de seleniu este
mai mare de 0,5 g/kg, cu un lichid cu pH 8...10, obținut din dizolvarea în apă a KOH, K₂CO₃
33 și 20% amoniac în proporție de 10:1:2. Brevetul nu prezintă procedee prin care să se asigure
aplicarea uniformă a acestui nano-fertilizant pe bază de seleniu revendicat. De asemenea,
35 brevetul nu furnizează informații referitoare la biodisponibilitatea speciilor de seleniu eliberate
controlat din structura fertilizantului.

Pentru a mări biodisponibilitatea seleniului introdus în sol, brevetul **CN 10126011** pre-
37 zintă o compoziție pe bază de 40...60% acid humic, 5...20% selenit de sodiu și 20...40%
bioxid de siliciu. Brevetul nu descrie procedee de aplicare uniformă a acestei compoziții (în
39 doze care sunt de ordinul kg/ha). Studiile recente (**Chopin ș.a., 2009, European Journal
of Soil Science, 60, 369-376**) au demonstrat că acizii humici cresc gradul de adsorbție a
41 selenitului pe complexii din sol, reducând nivelul de regăsire a acestuia în soluția solului (de
unde este preluat de sistemul radicular al plantelor). Deci acizii humici pot, în unele tipuri de
43 sol, să reducă biodisponibilitatea seleniului.

Pentru a se asigura formarea unei recolte de grâu cu un conținut ridicat de seleniu,
45 brevetul **CN 101347074 (A)** propune un procedeu în care se aplică fertilizanți cu seleniu atât
ca tratament la sol, cât și ca tratament foliar. Inițial, înainte de semănatul grâului, se aplică
47 la sol o doză de 10...20 kg/mu (echivalent 150...300 kg/ha) de fertilizant solid, obținut din
30...50 părți bagasă, 0,5...2 părți selenit de sodiu și 2...5 părți de sulfat de amoniu.

RO 127511 B1

Tratamentul foliar se face cu un amestec de selenit de sodiu, sulfat de amoniu și fosfat monopotasic, în proporție de 1:1:1. Amestecul descris se aplică în concentrații cuprinse în intervalul 0,05...2%, de trei ori în timpul vegetației grâului: la înfrățire, la începutul perioadei de formare și maturare a boabelor, și la mijlocul perioadei de formare și maturare a boabelor. Aplicarea uniformă a 150...300 kg de fertilizant solid pe 1 ha nu se poate realiza decât prin utilizarea intensivă a unei forțe de muncă extrem de conștiincioase, neexistând dispozitive pentru aplicarea mecanizată a unei cantități atât de reduse. Așa cum s-a arătat și mai sus, selenitul aplicat foliar are o rată mică de translocare în boabele de grâu; aplicarea concomitentă de sulfat reduce suplimentar metabolizarea selenitului de sodiu aplicat foliar, seleniul competiționând cu sulful pentru încorporarea în (Se) cisteină, (Se) metionină și (Se) cistină. Cererea de brevet **KR 20090055379 (A)** se referă la o metodă de cultivare a culturilor conținând seleniu, fără utilizarea fertilizanților chimici, folosind un fertilizant ecologic și bălegar. Metoda de cultivare constă în aplicarea unui fertilizant pe bază de molasă, ciuperci conținând lactobacilus, drojdie, bacterii de fotosinteză, și actinomicete, la care se adaugă făină de orez, făină de pește, făină de oase, făină de ricin, pulbere de scoici, selenit de sodiu și, după o perioadă de 20 de zile de îmbătrânire, se aplică fertilizantul obținut prin pulverizarea unei cantități de 3000 kg/ha. O compoziție asemănătoare se menține timp de 5...6 luni pentru a obține un îngrășământ lichid bogat în aminoacizi, care se diluează cu apă și se utilizează pentru fertilizare, pentru îmbogățirea conținutului de seleniu. De asemenea, în cererea de brevet **CN 101054564 (A)** este descrisă obținerea unei pulberi liofilizate, a unui fertilizant lichid și a unui fertilizant solid, constituit dintr-un agent bacterian care fixează azotul îmbogățit cu seleniu, compus din selenit de sodiu, peptonă, drojdie, soluție apoasă de pământuri rare, clorură de sodiu, apă etc. Fertilizantul bacterian lichid este obținut din trei tulpini, și ulterior poate fi liofilizat în vid, rezultând pulberea liofilizată. Pentru a obține fertilizantul solid, se mai adaugă dejectii de pui, ghips, pământuri rare, fosfat diacid de potasiu, selenit de sodiu.

Un dezavantaj comun al tuturor brevetelor de mai sus este faptul că nu includ praguri limită pentru încărcarea cu seleniu a diferitelor zone. Seleniul este un element potențial toxic, cu o fereastră fiziologică foarte îngustă. În cazul subiecților umani, la o doză zilnică ingerată (RDI) de 20 μg/zi se produc carențe (cardiomiopatii grave). Dozele mai mici de 40 μg/zi sunt asociate unor creșteri semnificative ale incidenței unor boli cronice. La o ingerare (supra-optimală) de 200 μg/zi se reduce incidența a numeroase cancere, iar RDI care produce intoxicație cronică este considerată de OMS ca fiind de 400 μg/zi. Practic există un singur ordin de mărime între valorile benefice și cele toxice, iar aplicarea oricărui procedeu de suplimentare a lanțului alimentar trebuie asociată cu un sistem corespunzător de suport al deciziei, care să includă și un subsistem de managementul riscurilor de supradozare.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este limitarea fenomenului de fitotoxicitate și menținerea unei biodisponibilități ridicate a seleniului adăugat în funcție de necesitățile solului, determinate cu sprijinul unui sistem informatic de suport al deciziei.

Procedeu de biofortifiere cu seleniu a recoltei de grâu, conform invenției, înlătură dezavantajele menționate prin aceea că se obține un volum de 9...22 l soluție prin dizolvarea în apă proaspătă de fântână, adusă la temperatura mediului ambiant, a 3 g/l zaharoză; 0,5 g/l K₂HPO₄, 0,2 g/l MgSO₄·x 7H₂O; 0,1 g/l NaCl; 7 g/l plasmolizat de drojdie suplimentat cu 100 ± 5 mg Se/100 g plasmolizat, 0,5 g/l glutamat de sodiu, 0,2 g/l K₂MoO₄, la care se adaugă un volum de 900...2,2 ml de suspensie de bacterii inoculante *Serratia plymuthica* Ps33 sau *Bacillus amiloliquefaciens* B100, cu un conținut de minimum 10⁸ ufc/ml, iar suspensia rezultată se diluează cu apă proaspătă de fântână, până la realizarea unor norme de aplicare cuprinse în intervalul 90...220 l/ha, și se aplică în brazdă concomitent cu semănatul, la presiuni de lucru de 0,5...3 bar a echipamentului de aplicare prin pulverizare în brazdă, și la o viteză medie de deplasare a agregatului de semănat de 7 km/h.

RO 127511 B1

1 Sistemul de suport al deciziei de aplicare a procedurii de biofortifiere cu seleniu a
2 recoltei de grâu este constituit dintr-o bază de cunoștințe, care conține acele informații și pro-
3 ceduri care provin de la expert, printr-un modul de achiziție a cunoașterii, o bază de fapte
4 prin care utilizator sistemului expert furnizează datele particulare proprii, un mecanism de
5 interferență prin care baza de date și baza de fapte sunt utilizate pentru generarea unei
6 concluzii, care este compilată prin modulul explicativ și apoi transferată interfeței cu
7 utilizatorul.

În particular, modulul de achiziție a cunoștințelor conține:

9 - datele privind seleniul din sol al zonei considerate (seleniu total din sol și seleniu
mobil);

11 - datele privind factorii solului care influențează asimilarea seleniului de către planta
de grâu (pH);

13 - date privind conținutul de seleniu în recolta de grâu;

14 - limitele pentru domeniul parametrului considerat, conform căreia se ia decizia de
15 intervenție pentru suplimentarea lanțului alimentar cu seleniu;

16 - procedurile de prelucrare a datelor pentru adaptare la stocare și luare de decizii de
17 către motorul de inferență.

Procedul de biofortifiere, conform invenției, are următoarele avantaje:

19 - limitarea fitotoxicității seleniului, prin reducerea dozelor, și complexarea respectivei
cantități de seleniu într-un suport de plasmolizat de drojdie, suport recunoscut și larg utilizat
21 pentru reducerea toxicității seleniului;

22 - aplicarea ca suspensie apoasă, și folosirea ca agent de diluare a apei de fântână,
23 material larg accesibil, fapt care asigură uniformitatea dozei de seleniu aplicate;

24 - menținerea unei biodisponibilități ridicate a diferitelor specii de seleniu, prezente în
25 sol sau formate ca urmare a aplicării compoziției de mai sus, datorită inoculării în brazdă cu
tulpini de bacterii care au o acțiune dovedită de menținere a unei biodisponibilități ridicate
27 a seleniului, prin echilibrul indus între speciile moleculare de fosfor și sulf din soluția solului,
care, pe de o parte, competiționează cu speciile de seleniu pentru sistemele de transport
29 activ în celulele radiculare ale plantelor, iar pe de alta, dezlocuiesc speciile de seleniu adsor-
bite pe complexii organo-minerali din sol;

31 - lipsa de interacție dintre compoziția aplicată pe sol, conținând seleniu și microorga-
nisme inoculante, și produsele de protecția plantelor aplicate ca tratament al seminței,
33 întrucât aplicarea compoziției se face pe brazdă;

34 - favorizarea acțiunii microorganismelor inoculante atât asupra solului, cât și asupra
35 plantei de cultură, datorită aplicării pe brazdă în momentul semănatului.

Sistemul de suport al deciziei de aplicare a procedurii de biofortifiere cu seleniu a
37 recoltei de grâu prezintă următoarele avantaje:

38 - nu necesită intervenția expertului pentru luarea deciziei de biofortifiere a lanțului
39 alimentar;

40 - generează soluția de biofortifiere în funcție de situațiile particulare semnalate de
41 către utilizator;

42 - din partea utilizatorului necesită doar localizarea pe hartă (cunoștințe elementare
43 de geografia zonei de interes);

44 - este flexibil, expertul putând modifica numărul variabilelor de decizie, cu generarea
45 de răspunsuri pentru cazurile generate.

În continuare, invenția va fi descrisă în detaliu, cu referire și la figura ce reprezintă
47 schema de principiu a sistemului expert pentru luarea deciziei de biofortifiere.

Exemplu

1
 3
 5
 7
 9
 11
 13
 15
 17

Datele necesare pentru suportul deciziei de biofortifiere sunt obținute prin procedee de eșantionare și analiză în laborator a solului și recoltei din zona considerată, cu localizarea precisă a recoltării prin coordonatele eșantionării (coordoanate geografice sau proiecție). Eșantioanele georeferențiate prin coordonate sau proiecții sunt sursele primare pentru informație. Cu aceste informații se obțin, prin interpolare Kriging, distribuțiile pe teritoriul considerat al parametrilor considerați ca variabile de decizie (pH, Se total din sol, Se mobil din sol, Se total din recolta de grâu). Cu ajutorul limitelor parametrilor se determină domeniile pentru care valoarea parametrului respectiv este acceptată corespunzător sau necorespunzător (valoarea 1 sau 0), rezultând pentru fiecare parametru câte o hartă (proiecție) cu zone pentru valoarea 0 sau 1. Luând în considerare n parametri ca variabile de decizie, rezultă 2^n situații pentru care trebuie generată câte o procedură de intervenție. Prin suprapunerea hărților se obține o hartă rezultantă, cu o scară de la 0 la $2^n - 1$ a parametrilor de decizie. Cu ajutorul valorilor binare obținute pentru fiecare parametru, se generează valoarea parametrului de decizie (caz). Cu ajutorul tabelului de proceduri de intervenție se obțin cele 2^n răspunsuri ale sistemului expert (funcția de transfer a mecanismului de inferență). Pentru fiecare pixel al hărții rezultante va exista un răspuns al sistemului expert. Harta rezultată este stocată în baza de cunoștințe.

19
 21
 23

Prin interfața cu utilizatorul se introduce de către utilizator locul de pe hartă pentru care se solicită răspunsul sistemului expert. Acest loc se traduce în mecanismul de inferență prin localizarea pe harta rezultantă din hărțile parametrilor considerate ca variabile de decizie (valori de la 0 la $2^n - 1$). Mecanismul de inferență va genera răspunsul sistemului, prin funcția de transfer. Răspunsul este trimis către interfața cu utilizatorul prin modulul explicativ, ca un mesaj scris.

25
 27
 29

În cazul în care este necesară biofortifierea cu seleniu, se aplică următorul procedeu. Se realizează un volum de 9...22 l de soluție de aplicare prin dizolvarea în apă proaspătă de fântână, încălzită la temperatura mediului ambiant, a cantităților de substanțe corespunzătoare următoarelor concentrații: 3,0 g/l zaharoză; 0,5 g/l K_2HPO_4 ; 0,2 g/l $MgSO_4 \times 7H_2O$; 0,1 g/l NaCl; 7 g/l plasmolizat de drojdie suplimentat cu 100 ± 5 mg Se/100 plasmolizat 0,5 g/l glutamat de sodiu; 0,2 g/l K_2MoO_4 .

31
 33
 35
 37

Plasmolizatul seleniat de drojdie se realizează după cum urmează: 500 părți drojdie pentru panificație (26% substanță uscată) se emulsionează cu 2400...2500 părți apă, se menține 30 min la 70...75°C, se sterilizează 20 min la 105°C, se răcește la 30...35°C, se tratează cu 0,08...0,1 părți metabisulfid de sodiu ($Na_2S_2O_5$), iar după 30 min se adaugă 16...18 părți selenat de sodiu (Na_2SeO_4). Se omogenizează la presiune medie (150...200 bari) și se deshidratează prin atomizare la temperatură joasă (130...140°C intrare agent uscare, 70...75°C ieșire agent uscare).

39

Peste soluția preparată ca mai sus se aduce un volum de 900...2200 ml de suspensie de bacterii inoculante *Serratia plymuthica* Ps33 sau *Bacillus amiloliquefaciens* B100, cu un conținut de minimum 10^8 ufc/ml.

41
 43
 45

Suspensia de microorganisme de mai sus se diluează în soluție de aplicare cu apă proaspătă de fântână, până la realizarea unor norme de aplicare cuprinse în intervalul 90...220 l/ha. Se aplică suspensia rezultată în brazdă concomitent cu semănatul, prin utilizarea de echipamente agricole specifice de aplicare soluției în brazdă, la presiuni de lucru cuprinse în intervalul 0,5...3 bar a echipamentului de aplicare prin pulverizare în brazdă, și la o viteză medie de deplasare a agregatului de semănat de 7 km/h.

RO 127511 B1

1

Revendicare

3

Procedeu de biofortifiere cu seleniu a recoltei de grâu, **caracterizat prin aceea că** se obține un volum de 9...22 l soluție prin dizolvarea în apă proaspătă de fântână, adusă la temperatura mediului ambiant, a 3 g/l zaharoză, 0,5 g/l K_2HPO_4 , 0,2 g/l $MgSO_4 \times 7H_2O$; 0,1 g/l NaCl, 7 g/l plasmolizat de drojdie suplimentat cu 100 ± 5 mg Se/100 g plasmolizat, 0,5 g/l glutamat de sodiu, 0,2 g/l K_2MoO_4 , la care se adaugă un volum de 0,9...2,2 ml de suspensie de bacterii inoculante *Serratia plymuthica* Ps33 sau *Bacillus amiloliquefaciens* B100, cu un conținut de minimum 10^8 ufc/ml, iar suspensia rezultată se diluează cu apă proaspătă de fântână, până la realizarea unor norme de aplicare cuprinse în intervalul 90...220 l/ha, și se aplică în brazdă concomitent cu semănatul, la presiuni de lucru cuprinse în intervalul 0,5...3 bar a echipamentului de aplicare prin pulverizare în brazdă, și la o viteză medie de deplasare a agregatului de semănat de 7 km/h.

11

13

(51) Int.Cl.

C05D 9/02 (2006.01);

C05F 11/08 (2006.01);

C05G 1/00 (2006.01)

