

Biostymulator roślinny i sposób jego wytwarzania

Przedmiotem wynalazku jest naturalny biostymulator roślinny bazujący na ekstraktach botanicznych, aplikowany celem poprawy wzrostu i rozwoju roślin. Przedmiotem wynalazku jest również sposób wytwarzania biostymulatora roślinnego.

Zgodnie z zasadami allelopatii, rośliny danego gatunku mogą wytwarzać substancje chemiczne, które wpływają na kiełkowanie, wzrost i rozwój innych roślin.

Znane są biostymulatory produkowane z szerokiej gamy surowców (substancje humusowe, wodorosty morskie, rośliny, żywe kultury drobnoustrojów, hydrolizaty białkowe i aminokwasy, oraz syntetyczne cząsteczki), które mogą działać na różnym poziomie metabolicznym, sprzyjając lepszemu przyswajaniu, przemieszczaniu i wykorzystywaniu składników odżywczych. Jak dotąd prowadzone są badania nad wpływem ekstraktów z *Moringa oleifera* na jakość plonu roślin uprawnych, zarówno na poziomie biochemicznym, hormonalnym, jak i genetycznym (Caradonia, F.; Battaglia, V.; Righi, L.; Pascali, G.; La Torre, A. Plant biostimulant regulatory framework: prospects in europe and current situation at international level, J Plant Growth Regul 2018, 38, 2, 438-448).

Znany jest biostymulator do intensyfikacji plonowania roślin opisany w patencie Pat.242829. Wynalazek opisuje biostymulator do intensyfikacji plonowania roślin, pochodzenia roślinnego, charakteryzujący się tym, że stanowi go wodny ekstrakt botaniczny z korzenia *Arctium lappa* L.

Znany jest preparat biostymulujący pochodzenia roślinnego i sposób jego przygotowania opisany w patencie WO2007/052282A1. Wynalazek opisuje biostymulator pochodzenia roślinnego i sposób jego otrzymywania. Biostymulator pochodzenia roślinnego jest przygotowywany z *Nicotina tabacum* L, poprzez kontrolowaną fermentację tytoniu. Może być stosowany jako preparat do zaprawiania nasion oraz oprysku roślin.

Znany jest biostymulator do intensyfikacji plonowania roślin opisany w patencie Pat.242830. Wynalazek opisuje biostymulator do intensyfikacji plonowania roślin, pochodzenia roślinnego, charakteryzujący się tym, że stanowi go wodny ekstrakt botaniczny z nasion *Linum usitatissimum* L.

Znany jest biostymulator do intensyfikacji plonowania roślin opisany w patencie Pat.242827. Wynalazek opisuje biostymulator do intensyfikacji plonowania roślin,

pochodzenia roślinnego, charakteryzujący się tym, że stanowi go ekstrakt botaniczny z kwiatu *Verbascum thapsus* L.

Znane jest zastosowanie wodnego ekstraktu z liści *Artemisia absinthium* L. opisane w patencie Pat.242826. Wynalazek opisuje zastosowanie wodnego ekstraktu z liści *Artemisia absinthium* L. jako biopreparatu do intensyfikacji plonowania roślin uprawnych, w szczególności roślin z rodziny bobowatych.

Znany jest biostymulator do intensyfikacji plonowania roślin opisany w patencie Pat.242828. Wynalazek opisuje biostymulator do intensyfikacji plonowania roślin, pochodzenia roślinnego, charakteryzujący się tym, że stanowi go ekstrakt botaniczny z korzenia *Levisticum officinale* L.

Znany jest również wynalazek, opisany w patencie CN107372637A, który dotyczy rodzaju i metody przygotowania biostymulatora, bazującego na odpadach zwierzęcych i roślinnych. Przedstawiony w patencie biostymulator, ma wpływ na stymulowanie wzrostu roślin oraz promowanie wzrostu owoców i korzeni.

Znany jest patent na biostymulator wzrostu roślin oparty na algach morskich PL 230687. Istotę wynalazku stanowi biostymulator wzrostu roślin, zawierający od 0,1 do 60,0% masowych nadkrytycznego ekstraktu z biomasy makroalgi *Fucus species*, uzyskanego przy użyciu ekstrahenta w postaci nadkrytycznego ditlenku węgla (CO₂).

Z publikacji zgłoszenia patentowego CN107573183A znane jest zastosowanie pozostałości z nasion *Arctium lappa* do wytwarzania nawozu pobudzającego wzrost plonów. Przygotowanie nawozu obejmuje następujące etapy: kruszenie suchych nasion *Arctium lappa*, wykonanie ekstrakcji podkrytycznej nasion *Arctium lappa* przy użyciu butanu, propanu lub eteru dimetylowego jako mediów i usunięcie oleju z nasion *Arctium lappa* w celu uzyskania pozostałości i następnie dalsza ekstrakcja pozostałości przy użyciu metanolu lub etanolu i oddzielenie ekstraktu.

Ze stosowania znane są wywary i fermentowane wyciągi z takich roślin jak pokrzywa zwyczajna, skrzyp polny, mniszek lekarski, skórki bananów, czy wrotycz pospolity.

Jednym z narzędzi do tworzenia nowych i naturalnych biostymulatorów jest identyfikacja potencjału produktów naturalnych pochodzenia roślinnego. Stosowanie tych łatwo dostępnych preparatów w uprawie roślin jest tanie i bezpieczne. Stworzenie nowego naturalnego biostymulatora roślinnego, o odpowiednim potencjale bioaktywnym, umożliwiającym jego dolistne i doglebowe aplikowanie, wymagało precyzyjnego

wieloaspektowego podejścia w doborze gatunków roślin, które pozwolą podczas procesu ekstrakcji uzyskać jak najkorzystniejszy skład chemiczny i jak najniższe napięcie powierzchniowe wytworzonego produktu.

Istotą biostymulatora roślinnego do intensyfikacji wzrostu i rozwoju roślin, uzyskanego przy użyciu ekstrahenta w postaci wody jest to, że stanowi go ekstrakt botaniczny z wysuszonych części nadziemnych skrzypu polnego (*Equisetum arvense* L.), owoców dzikiej róży (*Rosa canina* L.) i korzeni mydlnicy lekarskiej (*Saponaria officinalis* L.). Otrzymywany jest jako napar z 45,0 do 50,0 g skrzypu polnego, 1,5 do 3,5 g owoców dzikiej róży i 0,1 do 0,5 g korzeni mydlnicy lekarskiej na 1000 ml wody. Użyty ekstrakt poddany jest aktywacji zimną plazmą.

Biostymulator jako ekstrakt wodny zawiera:

- makroelementy w następujących ilościach mg/l: Ca: 777,33±15,57; K: 1 853,33±60,28; Mg: 364,33±8,62; Na: 5,37±0,27; P: 629,35±10,57;
- mikroelementy w następujących ilościach, mg/l: Cu: 0,03±0,01; Fe: 0,11±0,02; Mn: 1,73±0,03; Sr: 3,14±0,06; Zn: 0,42±0,03;
- polifenole, łącznie 1142,50±47,21 mg GAE/l;
- cukry redukujące w ilości, mg GLU/l: 14,97±1,67;
- białko w ilości, mg BSA/l: 128,80±4,36;
- wolne aminokwasy i peptydy w ilości mg LEU/l: 476,15±28,05;
- prolina w ilości, mg/l: 41,34±3,66;
- kwas abscysynowy w ilości, ng/l: 85,82±3,99;
- kwas 3-indoloctowy w ilości, µg/l: 6,11±0,99;
- kwas gibberelinowy w ilości, mg/l: 8,59±0,18

Biostymulator jako ekstrakt wodny charakteryzuje się:

- zdolnością do wygaszania rodników ABTS: 1,19±0,13 mg TE/ml,
- siłą redukcji: 2,08±0,15 mg TE/ml,
- zdolnością do wygaszenia rodników hydroksylowych: 13,75±2,91 mg TE/ml,
- zdolnością chelatowania: 4,41±0,17 mg/ml,
- napięciem powierzchniowym: 51,86±1,05 mN/m.

Istotą sposobu otrzymywania biostymulatora roślinnego przy użyciu ekstrahenta w postaci wody jest to, że stosuje się ekstrakty botaniczne pozyskane z wysuszonych części nadziemnych skrzypu polnego (*Equisetum arvense*), owoców dzikiej róży (*Rosa canina*) i

korzeni mydlnicy lekarskiej (*Saponaria officinalis*) otrzymywane jako napar z 45,0 – do 50,0 g skrzypu polnego, 1,5- 3,5 g owoców dzikiej róży i 0,1 - 0,5 g korzeni mydlnicy lekarskiej na 1000 ml wody. Ekstrakty poddaje się aktywacji zimną plazmą przez 30 do 90 s poprzez wyładowanie elektryczne, wygenerowane pomiędzy parą elektrod o minimalnej odległości pomiędzy elektrodami wynoszącej 1,5 mm. Ekstrakt roślinny umieszcza się pod głowicą plazmową w odległości od 6 do 12 cm i w przepływie gazu roboczego na poziomie od 20 do 40 SCFH.

Preparat ten jest produktem naturalnym, nietoksycznym całkowicie rozpuszczalnym w wodzie. Zastosowanie etapu aktywowania zimną plazmą pozwala zmniejszyć napięcie powierzchniowe biostymulatora.

Związki polifenolowe i aminokwasy oraz fitohormony stanowią najważniejsze związki aktywne w naturalnym biostymulatorze intensyfikującym wzrost i rozwój roślin, opartym na ekstraktach botanicznych. Roślinny preparat biostymulujący charakteryzuje się własnościami wzmacniania odporności swoistej roślin na stres abiotyczny ze względu na koncentrację związków biologicznie czynnych, które w odpowiednich stężeniach mają działanie stymulujące kiełkowanie i wzrost roślin.

Biostymulator ten ma postać płynną i przeznaczony jest do aplikacji dolistnej, w uprawach roślin. Roztwory robocze biostymulatora, dostarczane roślinom przez oprysk są w pełni przez nie przyswajane.

Roślinny preparat biostymulujący charakteryzuje się także ograniczoną tendencją do destabilizacji. Przedstawiony biostymulator może być krótkotrwale przechowywany, ze względu na brak dodatku substancji konserwujących. Zastosowanie wody, jako czynnika ekstrahującego, zamiast etanolu, metanolu czy acetonu, zapewnia wytworzenie mieszaniny związków biologicznie aktywnych, neutralnych dla środowiska i nadających się do wykorzystania w rolnictwie ekologicznym.

Zaprezentowany biostymulator stanowi także opcję alternatywną dla produktów pozyskiwanych z roślin tropikalnych czy alg morskich, co zmniejsza koszty związane z dostępnością i transportem surowców czy produktów, a w konsekwencji z ceną produktów przeznaczonych do regulacji wzrostu i rozwoju roślin uprawnych.

Przedmiot wynalazku został pokazany w przykładzie, obrazującym skład roślinnego biostymulatora i wpływu dolistnej aplikacji w warunkach kontrolowanych na wzrost roślin soi.

Przykład

Suchą biomasę z części nadziemnych *Equisetum arvense* (47,5 g), owoców *Rosa canina* (2,3 g) i korzeni *Saponaria officinalis* (0,2 g) w łącznej ilości 50 g ekstrahuje się w 1000 ml wody przez 30 min., w temperaturze 100°C. Pozyskany ekstrakt poddaje się wirowaniu przy 4250 rpm przez 5 minut. Następnie supernatant poddaje się aktywacji zimną plazmą przez 60 s poprzez wyładowanie elektryczne, wygenerowane pomiędzy parą elektrod o odległości 2 mm pomiędzy elektrodami. Ekstrakt roślinny umieszczony był pod głowicą plazmową w odległości 8 cm. Przepływ gazu roboczego utrzymywano na poziomie 30 SCFH. Supernatant, stanowi biostymulator roślinny aktywowany zimną plazmą, który ma skład przedstawiony poniższej tabeli.

Komponent	Zawartość
Makroelementy (mg/l)	
Ca	777,33±15,57
K	1 853,33±60,28
Mg	364,33±8,62
Na	5,37±0,27
P	629,35±10,57
Mikroelementy (mg/l)	
Cu	0,03±0,01
Fe	0,11±0,02
Mn	1,73±0,03
Sr	3,14±0,06
Zn	0,42±0,03
Pozostałe składniki	
polifenole, mg GAE/l	1142,50±47,21
cukry redukujące, mg GLU/l	14,97±1,67
białko, mg BSA/l	128,80±4,36
wolne aminokwasy i peptydy, mg LEU/l	476,15±28,05
prolina, mg/l	41,34±3,66
Fitohormony	
kwab abscysynowy, ng/l	85,82±3,99
kwab indolo-3-octowy, µg/l	6,11±0,99
kwab giberelinowy, mg/l	8,59±0,18

Wytworzony biostymulator charakteryzował się potencjałem przeciwutleniającym:

- zdolność do wygaszania rodników ABTS: 1,19±0,13 mg TE/ml,

- siła redukcji: $2,08 \pm 0,15$ mg TE/ml,
- zdolność do wygaszenia rodników hydroksylowych: $13,75 \pm 2,91$ mg TE/ml,
- zdolność chelatowania: $4,41 \pm 0,17$ mg/ml.

Napięcie powierzchniowe wytworzonego biostymulatora roślinnego miało wartość: $51,86 \pm 1,05$ mN/m (napięcie powierzchniowe wody użytej do ekstrakcji miało wartość $71,95 \pm 0,37$ mN/m).

Biostymulator roślinny aktywowany zimą plazmą o podanym składzie i parametrach przeznaczony jest do aplikacji dolistnej.

Efekt stosowania biostymulatora przygotowanego wg Przykładu w warunkach kontrolowanych

W 2023 r. przeprowadzono doświadczenie mające na celu sprawdzanie skuteczności, pozyskiwanego wg ww. Przykładu, biostymulatora do intensyfikacji wzrostu i rozwoju roślin. Jako roślinę testową wybrano soję odmiany Abelina. Doświadczenie przeprowadzono w warunkach kontrolowanych (fitotron) w czterech powtórzeniach po 20 roślin na każde powtórzenie i kombinację. Biostymulator aplikowano dolistnie dwukrotnie (w 14 i 21 dniu po wschodach) w ilości 0,5 ml każdorazowo. Próbę kontrolną opryskiwano wodą służącą do wykonania ekstraktów. Po 3 dniach od każdej aplikacji pobierano rośliny i mierzono: długość korzeni, wysokość roślin oraz masę korzeni i części nadziemnych. Aplikacja biostymulatora w formie oprysku stymulowała rozwój roślin, co pozwoliło uzyskać rośliny wyższe i o lepiej rozwiniętym systemie korzeniowym w porównaniu z kombinacją kontrolną. Mierzone parametry przedstawiono w poniższej tabeli (kontrola = 100%).

Aplikacja	Pomiar po I oprysku				Pomiar po II oprysku			
	Długość korzeni	Wysokość roślin	Masa korzeni	Masa części nadziemnej	Długość korzeni	Wysokość roślin	Masa korzeni	Masa części nadziemnej
Kombinacja kontrola (oprysk wodą)	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Oprysk biostymulatorem	109%	115%	104%	120%	116%	122%	109%	129%

PROREKTOR
ds. Nauki i Współpracy z Zagranicą

prof. dr hab. Bartosz Kotowicz

mgr inż. Magdalena Tarala
RZECZNIK PATENTOWY
Nr 3268.