

SECTIUNEA 1

RAPORTUL STIINTIFIC SI TEHNIC (RST)

ETAPA DE EXECUTIE NR. 3

CU TITLUL *Studii de experimentare biologica a derivatilor sulfonamidati (Seria I) ; Sinteza, caracterizarea structurala a sarurilor acizilor sulfonamidofenoxiacetici (Seria II) si studiul activittii biostimulatoare a derivatilor din aceasta serie.*

- x RST - Raport stiintific si tehnic in extenso***
- x Proces verbal de avizare interna**
- x Procese verbale de receptie a lucrarilor de la parteneri**
- ☐ **Raport final de activitate (numai pentru etapa finala)**

* pentru Programul 4 "Parteneriate in domeniile prioritare" se va utiliza modelul din Anexa 1

RAPORTUL STIINTIFIC SI TEHNIC

CUPRINS

OBIECTIVELE GENERALE	9
OBIECTIVELE FAZEI	10
REZUMATUL FAZEI	10
DESCRIEREA STIINTIFICA SI TEHNICA	15
CONCLUZII	63
BIBLIOGRAFIE	65

RAPORTUL STIINTIFIC SI TEHNIC (RST)

ETAPA a III-a

“Studii de experimentare biologica a derivatilor sulfonamidati (Seria I) ; Sinteza, caracterizarea structurala a sarurilor acizilor sulfonamidofenoxiacetici (Seria II) si studiul activittii biostimulatoare a derivatilor din aceasta serie”

Obiectivele generale ale proiectului se refera la obtinerea de biostimulatori inovativi de crestere pentru produse vegetale, biostimulatori din clasa derivatilor sulfonamidofenoxiacetici cu indice de toxicitate foarte redus, biodegradabile, obiective care includ, deci, sinteza biostimulatorilor, caracterizarea structurala si toxicologica si evaluarea actiunii biostimulatoare pe cultirilor de grau si tomate.

Obiectivele specifice ale proiectului propus a fi realizat prin cercetare multidisciplinara in parteneriat sunt:

1. evaluarea cercetarilor pe plan mondial in domeniul biostimulatorilor si a erbicidelor sulfonamidice, sulfonanilidice si sulfonureidice;
2. sinteza esterilor etilici sulfonamidati ai derivatilor fenoxiacetici substituiti la gruparea sulfonamidica cu alchilamine, aminoacizi si ester bazici;
3. sinteza derivatilor sulfonamidati ai acizilor-fenoxiacetici;
4. sinteza sarurilor esterilor bazici cu acizi sulfonamidofenoxiacetici;
5. sinteza sulfonilureidelor derivatilor sulfonamidofenoxiacetici;
6. elucidarea problemelor de structura prin analize chimice si spectroscopie in IR, UV, H-RMN, C-RMN si de toxicitate cronica si acuta.
7. evaluarea efectelor biostimulatoare ale derivatilor obtinuti in biotehnologia graului si tomatelor.
8. implicarea membrilor echipei cu inalta calificare in antrenarea tinerilor in activitatile de cercetare si specializarea lor pentru activitati de cercetare viitoare.

OBIECTIVELE GENERALE ALE ETAPEI

1. Obținerea de noi derivați ai acizilor sulfonamido-clor-fenoxiacetici;
2. Caracterizarea structurala si toxicologica prin metode specifice;
3. Evaluarea actiunii stimulative de crestere a compusilor sintetizati prin experimentari biologice.

OBIECTIVELE SPECIFICE

1. Sinteza de noi derivați ai acizilor sulfonamido-clor-fenoxiacetici precum și a sărurilor acestor acizi, săruri care reprezintă forma sub care se utilizează aceste produse în experimentările biologice privind efectele biostimulatoare în cultura grâului și a tomatelor;

2. Analize structurale efectuate prin spectroscopie IR, UV-Vis, H-RMN, C-RMN), analize elementale pentru derivatii sulfonamido-R1-fenoxiacetici sintetizati;

3. Studii de toxicitate pentru derivatii sulfonamidati sintetizati si selectarea compusului cu toxicitate minima;

4. Studii biologice privind influenta compusilor sintetizati si caracterizati asupra proceselor de germinare, crestere si dezvoltare a graului si tomatelor precum si efectul tratamentelor aplicate cu diverse dilutii ale compusilor studiatii asupra productiei la aceste doua culturi.

Se urmareste in cadrul acestei etape indeplinirea urmatoarelor activitati:

- Sinteza de noi derivati sulfonamidati R-fenoxiacetici (Seria I);
- Caracterizare structurala si toxicologica;
- Evaluarea actiunii biostimulatoare de crestere;
- Noi saruri sulfonamido- fenoxiacetice (Seria II)
- Caracterizare structurala si toxicologica;
- Cuantificarea efectelor biostimulative;
- Brevet/articol;
- Raport cercetare.

REZUMATUL ETAPEI

În cadrul acestei etape sunt prezentate rezultatele cercetărilor realizate privind obținerea și caracterizarea următoarelor serii de produse finale și a formelor condiționate după cum urmează:

- Sinteza și caracterizarea a 6 derivați de 2-clor-4,6-diamidosulfonil-clor-fenoxi-1,3,5-triazine.
- Sinteza și caracterizarea a 9 derivați de 1-amidosulfonil-clor-fenoxiacetil-3,5-pirazol.
- Sinteza și caracterizarea a 8 săruri ale acizilor amidosulfonil-clor-fenoxiacetici.

Pe baza analizei critice a datelor de literatura au fost stabilite metodele de sinteza pentru obtinerea de noi esterii sulfonamidati ai derivatilor fenoxiacetici. Conform Planului de realizare si a Schemei de lucru obiectivul acestei etape a fost sinteza unor compusi care se inscriu in urmatoarea structura generala:

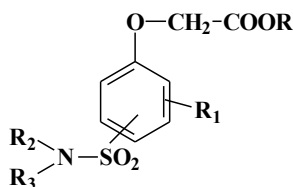
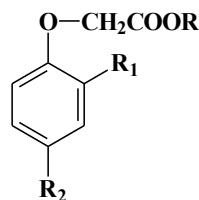


Figura 1

Unde : R = H, C_2H_5 ,
 R_1 = o-Cl, p-Cl;
 R_2, R_3 = heterociclu

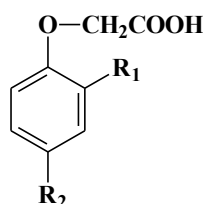
Au fost obtinuti prin sinteza chimica intermediarii necesari si compusii din seria I. Structura intermediarilor si a compusilor obtinuti a fost confirmata prin analiza elementala, spectroscopie IR si RMN.

Au fost sintetizati urmatoorii intermediari:

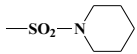


Nr.Crt.	Denumire intermediar	R	R ₁	R ₂	p.t. C	Rand. %	Analiza elementala %				
							C _t /C _g	H _t /H _g	Cl _t /Cl _g	N _t /N _g	S _t /S _g
1	Acid 4-cloro-fenoxi acetic	H	H	Cl	157,5-159	90	51,5/51,23	3,78/3,65	19/18,86	-	-
2	Acid 2-cloro-fenoxi acetic	H	Cl	H	147,1-148,3	83	51,5/51,24	3,78/3,63	19/18,9	-	-
3	Esterul etilic al acidului 4-cloro-fenoxi acetic	C ₂ H ₅	H	Cl	49-50,1-	97	55,96/56,03	5,16/4,95	16,52/16,42	-	-
4	Esterul etilic al acidului 2-cloro-fenoxi acetic	C ₂ H ₅	Cl	H	29,7-30,7	88	55,96/56,19	5,16/5,01	16,52/16,36	-	-
5	Esterul etilic al acidului 2-clorosulfonil 4-cloro-fenoxi acetic	C ₂ H ₅	SO ₂ Cl	Cl	74,2-75,8	50	38,35/38,88	3,22/3,09	22,64/22,18	-	10,24/10,16
6	Esterul etilic al acidului 2-cloro-4-clorosulfonil 4 -fenoxi acetic	C ₂ H ₅	Cl	SO ₂ Cl	67,1-68,7	60	38,35/38,63	3,22/2,96	22,64/22,43	-	10,24/10,15
7	S-1A	C ₂ H ₅		Cl	86-86,9	55	51,13/51,39	5,9/5,6	9,43/9,48	3,73/4,0	8,53/8,71
8	S-1B	C ₂ H ₅		Cl	112,5-113,4	53	49,79/49,97	5,57/5,35	9,8/9,92	3,87/4,14	8,86/9,07
9	S- 1C	C ₂ H ₅	Cl		118,1-119	78	51,13/51,26	5,9/5,63	9,43/9,54	3,73/4,02	8,53/8,77
10	S -1D	C ₂ H ₅	Cl		104,6-106,1	93	49,79/49,85	5,57/5,35	9,8/9,90	3,87/4,21	8,86/8,98

Au fost sintetizati urmatoorii compusi din seria I :



Nr. Crt.	Denumire compus	R ₁	R ₂	p.t. °C	Rand. %	Analiza elementala %				
						C _t /C _g	H _t /H _g	Cl _t /Cl _g	N _t /N _g	S _t /S _g
1	A-1A		Cl	-	92	48,35/48,24	5,22/5,21	10,19/10,16	4,03/4,02	9,22/9,20
2	A-1B		Cl	140,1-142,2	85	46,78/46,50	4,83/4,95	10,62/10,59	4,20/4,31	9,60/9,79
3	A- 1C	Cl		159,1-160,2	79	48,35/48,24	5,22/5,20	10,19/10,17	4,03/4,01	9,22/9,30

4	A -1D	Cl		187,5- 189,3	76,5	46,78/ 46,14	4,83/ 4,88	10,62/ 10,63	4,20/ 4,27	9,60/ 9,73
---	-------	----	---	-----------------	------	-----------------	---------------	-----------------	---------------	---------------

Doi dintre compusii sintetizati si anume: Acidul 2-cloro-4-amidosulfonil fenoxiacetic (A-2A) (obtinut prin sinteza chimica de catre P1-Universitatea Tehnica "Gh. Asachi" Iasi) si Acidul 2-cloro-4-(piperidino)-sulfonil-fenoxi acetic (A-1D) (obtinut prin sinteza chimica de catre P2- Institutul National de Cercetare-Dezvoltare Chimico-Farmaceutica Bucuresti) au fost caracterizati din punct de vedere toxicologic.

În conformitate cu Ghidul OECD nr. 420, probele testate:

- A-1AD se încadrează în Categoria 4 - SGA (Sistemul Global Armonizat de clasificare a substanțelor chimice care cauzează toxicitate acută), echivalent „Nociv” în Clasificare UE și
- A-2A se încadrează în Categoria 5 -Neclasificat – SGA, echivalent „Neclasificat” în Clasificare UE.

In cadrul experimentarilor biologice la culturile de grau s-au realizat urmatoarele experiente:

Experiența 1 - Influența nutrienților, aplicați radicular și biostimulatorilor extraradicular, asupra producției grâului de toamnă cu trei factori :

Factorul A – Nutrienți cu cinci graduări :

- a₁ – N₀P₀K₀
- a₂ – N₆₀P₆₀K₆₀
- a₃ – N₉₀P₉₀K₉₀
- a₄ – N₁₂₀P₉₀K₉₀
- a₅ – N₁₆₀P₉₀K₉₀

Factorul B - Biostimulatori cu trei graduări:

- b₁- biostimulatorul BCO- 4DMA
- b₂- biostimulatorul BCO- 4K
- b₃- biostimulatorul BCO- 2 K

Factorul C- Biofaze de aplicare a biostimulatorilor :

- c₁- biofaza de înfrățire și aplicare a erbicidelor
- c₂- biofaza de „burduf”
- c₃ – biofaza de înflorire deplină

Experiența 2 – Influența concentrației unor biostimulatori asupra producției la câteva soiuri de grâu de toamnă, cu trei factori :

Factorul A – Biostimulatori cu 3 graduări :

- a₁- biostimulatorul BCO- 4DMA
- a₂- biostimulatorul BCO- 4K
- a₃- biostimulatorul BCO- 4 K + acetat de zinc

Factorul B – Concentrația biostimulatorilor cu 3 graduări :

- b₁- 50 ppm
- b₂- 25 ppm
- b₃ – 12,5 ppm

Factorul C – Soiuri de grâu

- c₁- soiul Boema
- c₂- soiul Crina
- c₃ – soiul Flamura 85

Experiența 3 – Influența epocii de aplicare a unor biostimualtori asupra grâului de toamnă cu 3 graduări :

Factorul A – Biostimulatori cu 3 graduări :

- a₁- biostimulatorul BCO- 4DMA
- a₂- biostimulatorul BCO- 2 K
- a₃- biostimulatorul BCO- 2 K + acetat de zinc.

Factorul B – Concentrația biostimulatorilor cu 3 graduări :

b₁- 50 ppm
b₂- 25 ppm
b₃- 12,5 ppm

Factorul C – Epoca de aplicare cu 3 graduări :

c₁- biofaza înfrățire
c₂- biofaza de „burduf”
c₃- biofaza înflorire deplină

Toate variantele s-au cercetat în 4 repetiții.

S-au făcut observații fenologice și măsurători biometrice, iar la recoltare s-au luat probe formate din 20 plante de grâu la care s-au făcut determinări privind înălțimea plantelor, numărul de spiculețe și boabe în spic, greutatea boabelor în spic, MMB.

Calculul statistic s-a făcut după metoda analizei varianței .

În ceea ce privește influența noilor compusi asupra plantelor de tomate în diferite stadii de dezvoltare, s-au efectuat experimente privind puterea și facultatea germinativă, înradacinarea și dezvoltarea rasadurilor și producția la tomate în cultura de câmp. Au fost realizate următoarele experiențe:

I. Influența compusilor asupra puterii și facultății germinative la semințele de tomate

S-au aplicat tratamente cu doi stimulatori de creștere în două diluții (20 ppm și 25 ppm); măsurătorile și observațiile au urmărit numărul de semințe germinate pe variantă, apariția și dimensiunile rădăcelor, gemelor și plantulelor cu două frunze.

II. Influența compusilor asupra înradacinării și dezvoltării rasadurilor de tomate

S-a observat influența compusilor studiați care au fost aplicați pe semințele de tomate prin înmuiere în soluții de concentrație 20 și 25 ppm, asupra vitezei de înradacinare și a dezvoltării rasadurilor. S-a urmărit apariția gemelor și plantulelor cu 2, 4 și 6 frunze.

Observațiile privind producția s-au făcut separat pentru primele două etaje apoi pentru etajele 3 și 4, măsurându-se producția medie pe plantă (g) și producția medie în tone/hectar. În final s-au făcut observații asupra producției totale a celor patru etaje pentru fiecare variantă.

Influența diferiților factori considerați s-a apreciat prin calcul statistic, utilizând metoda blocurilor randomizate cu diferență limită.

Rezultatele obținute până în prezent în cadrul acestui contract au constituit obiectul

1. **lucrării științifice** cu titlul: “Synthesis of new sulphonamide phenoxyacetic derivatives”, autori : Lucia Pintilie, Sultana Nita, Corneliu Oniscu, Miron Teodor Caproiu, ce a fost publicată în **Revista de Chimie**, (2010), **61**,(6),550-552;

2. **lucrării științifice** cu titlul “New Sulphonamide Phenoxyacetic Derivatives”-poster, autori Lucia Pintilie, Sultana Nita, Miron Teodor Caproiu, Corneliu Oniscu, ce a fost prezentată – prezentată în cadrul manifestării științifice “**7th International Conference of Chemical Societies of South-Eastern European Countries**” ce a avut loc în perioada 15-17 septembrie 2010, București;

3. **lucrării științifice** cu titlul : - *The effects of the treatments with substituted phenoxy-carboxylic acids and zinc salts on the germination process at tomato plants*, autori : Alina Trofin, Oniscu Corneliu, publicată în Scientific Papers, Horticultural series, 2009, Ed. “Ion Ionescu de la Brad” Iași, vol. 52, **ISSN 1454-7376**

4. **lucrării științifice** cu titlul : - *A comparative study on the germination faculty of the tomato seeds treated with sulfonamidic chloro-phenoxyacetic biodegradable growth stimulators*, autori : Alina Trofin, Oniscu Corneliu, Tatiana Sandu, Anca Mocanu, publicată în Scientific Papers, Horticultural series, 2009, Ed. “Ion Ionescu de la Brad” Iași, vol. 52, **ISSN 1454-7376**

5. **lucrării științifice** cu titlul : – *The study of the influence of BCO – 4 sodium salt biostimulator on germination, root formation, growth and production at tomato plants*, autori : Alina Trofin, Oniscu Corneliu, 2009, publicată în Roumanian Biotechnological Letters, vol. 14, no. 4, pg. 4501, **ISSN 1224 – 5984** (revista cu impact ISI)

6. **lucrării științifice** cu titlul : – *Aspects regarding the effects of BCO – 2 sodium salt growth stimulator on tomato plants in different development stages*, autori : Oniscu Corneliu, Alina Trofin, 2009, publicata in Roumanian Biotechnological Letters, vol. 14, no. 6, pg. 4835-4844, ISSN 1224 – 5984. (revista cu impact ISI)

7. **lucrării științifice** cu titlul : - The effect of some chloro-phenoxyacetic sulphonoamidic derivatives as growth stimulators on tomato seedlings' root formation and development processes, autori : Alina Trofin, Oniscu Corneliu, publicata in Scientific Papers, Horticultural series, 2010, Ed. "Ion Ionescu de la Brad" Iasi, vol. 53, **ISSN 1454-7376**

8. **lucrării științifice** cu titlul : - Cuantificarea efectului nutrienților și biostimulatorilor asupra producției grâului de toamnă, autori : Ghițău Carmen Simona, Țibulcă C-Tin. Laurențiu, publicata in Lucrări științifice USAMV Iași, seria Horticultură" vol. 53, 2010, Ed. "Ion Ionescu de la Brad" Iasi, **ISSN 1454-7376**

9. **lucrării științifice** cu titlul : - Efectul biostimulatorilor asupra unor însușiri biologice ale grâului de toamnă, autori : Ghițău Carmen Simona, Donțu Geanina Diana, publicata in Lucrări științifice USAMV Iași, seria Horticultură" vol. 53, 2010, Ed. "Ion Ionescu de la Brad" Iasi, **ISSN 1454-7376**

10. **lucrării științifice** cu titlul : - Efectul fertilizanților și al biostimulatorilor asupra unor elemente de productivitate la grâul de toamnă, autori : Ghițău Carmen Simona, Botnar Donțu Geanina Diana, Coteanu Andrei, Țibulcă Laurențiu, publicata in Lucrări științifice USAMV Iași, Seria Agronomie vol. 53, 2010, Ed. "Ion Ionescu de la Brad" Iasi, **ISSN 1454-7414**

11. **lucrării științifice** cu titlul : - Influența concentrațiilor unor biostimulatori asupra producției a trei soiuri de grâu cultivate în condițiile ecologice de la ferma Ezăreni Iași, autori : Ghițău Carmen Simona, Botnar Donțu Geanina Diana, Coteanu Andrei, Țibulcă Laurențiu, publicata in Lucrări științifice USAMV Iași, Seria Agronomie vol. 53, 2010, Ed. "Ion Ionescu de la Brad" Iasi, **ISSN 1454-7414**.

În finalul etapei la fiecare partener sunt prezentate concluziile desprinse din studiul realizat precum și bibliografia ce însoțește materialul redactat.

DESCRIEREA ȘTIINȚIFICĂ ȘI TEHNICĂ

PARTENER P1

Activitatea III.1. Stabilirea strategiei, conceperea și selectarea metodelor de sinteză pentru obținerea de noi derivați ai acizilor aminosulfonil-clor-fenoxiacetici și a sărurilor acestora

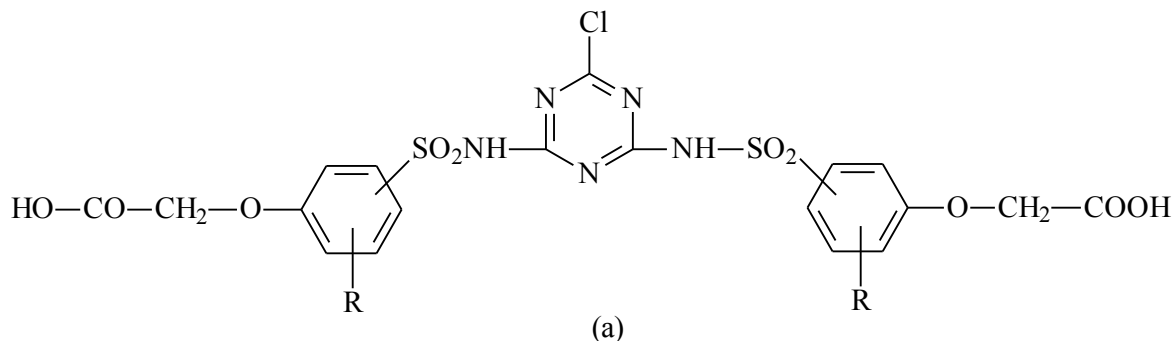
a) Obiective generale

Pe baza rezultatelor obținute în etapele precedente ale proiectului de cercetare în derulare, s-au stabilit **obiectivele generale** ale etapei a IIII-a, obiective care urmăresc conceperea și dezvoltarea de noi structuri chimice din clasa sulfonamidelor acizilor clorfenoxiacetici, utilizabili ca substanțe

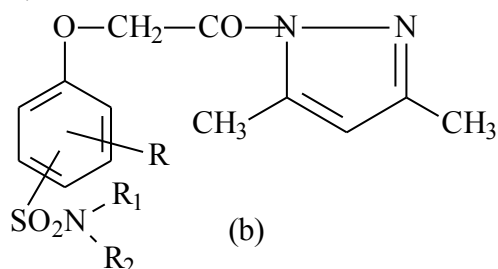
regulatoare de creștere inovative, cu proprietăți biologice de biostimulatori netoxici, biodegradabili și performanți pentru culturi agricole.

În cadrul celei de-a III-a etape ne-am propus următoarele obiective generale:

1. obținerea de noi produse inovative care să reunească în structura sa atât componente sulfonamido-clorfenoxiacetice cât și componente cu efecte biologice similare precum nucleele triazinice (a) și 3,5-dimetilpirazolonice (b) cu proprietăți auxinice, compuși care se înscriu în următoarele structuri generale (structuri definite în cadrul programului de cercetare ca fiind seria I)



unde: R este o-clor, p-clor, -O-CH₂-COOH

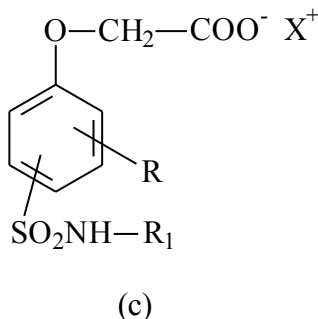


unde: R este o-clor, p-clor,

R₁ este H, CH₃, C₂H₅, ,

R₂ este H, CH₃, C₂H₅

2. Obținerea sărurilor acizilor sulfonamido-clorfenoxiacetici care să stabilizeze acizii în apă și care se înscriu în structura generală (c) (structură definită în cadrul programului ca fiind seria II).



unde: R este o-clor, p-clor,

R₁ este H, CH₃, C₂H₅,

X⁺ este Na⁺, K⁺, -N⁺H(CH₃)₂, -N⁺H(C₂H₅)₂

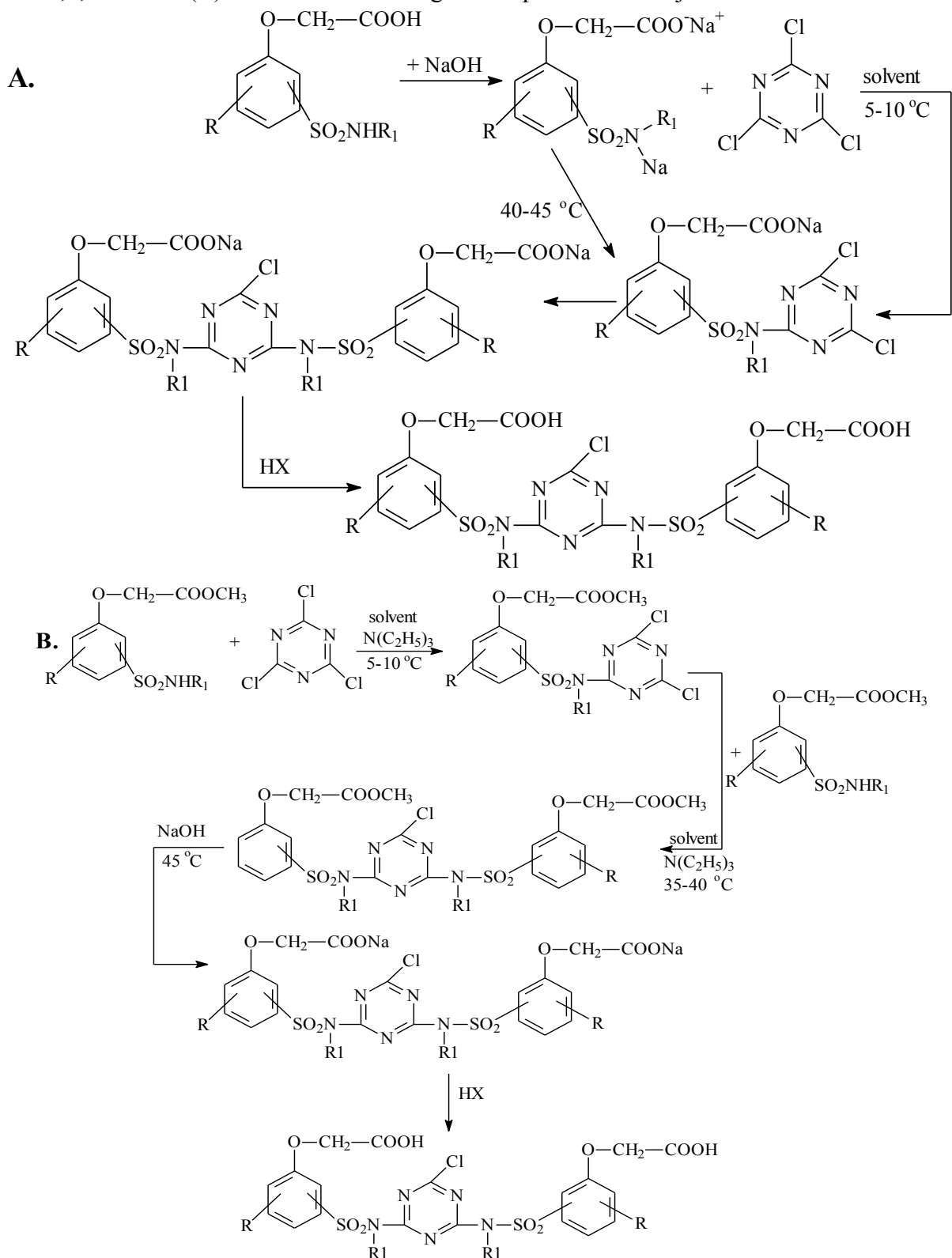
Prin urmare obiectivul general constă în obținerea de noi derivați ai acizilor sulfonamido-clor-fenoxiacetici, precum și a sărurilor acestor acizi, săruri care reprezintă forma sub care se utilizează aceste produse în experimentările biologice privind efectele biostimulatoare în cultura grâului și a tomatelor.

b) Obiectivele de execuție ale etapei a III-a

Printre obiectivele de execuție ale etapei a III-a se numără stabilitatea metodelor de obținere ale derivaților 1,3,5-triazin-2-clor-4,6-diaminosulfonil-clorfenoxiacetici, ale derivaților de 1-

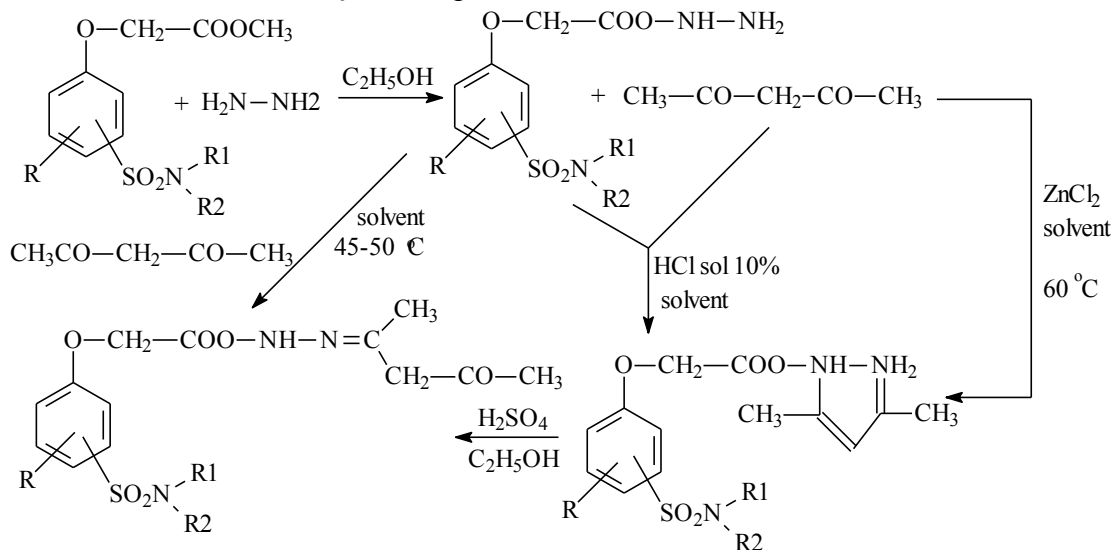
amidosulfonil-clorfenoxiacetil-3,5-dimetilpirazol și a sărurilor acizilor amidosulfonil-clorfenoxiacetici. În toate cazurile se vor prezenta căile posibile pentru sinteza respectivelor derivați, căi ce urmează a fi dezvoltate în detaliu la descrierea științifică și tehnică a cercetărilor originale realizate.

Obținerea derivaților 1,3,5-triazin-2-clor-4,6-diaminosulfonil-clor-fenoxiacetici este posibilă fie prin condensarea acizilor clorfenoxiacetici sulfonamidați cu clorură de cianuril în mediu bazic prin reacții succesive (A) fie prin condensarea esterilor clor-fenoxiacetici sulfoclorurați cu 2-clor-4,6-diamino-1,3,5-triazină (B) conform schemelor generale prezentate mai jos:



În ambele variante pentru obținerea derivaților 1,3,5-triazino-2-clor-4,6-di-sulfonamido-clor-fenoxiacetici se folosesc, pe lângă clorură de cianuril sau 2-clor-4,6-diamino-triazină, componentele sulfonamidice sau sulfoclorurile ale căror tehnici de obținere și apoi caracterizare au fost prezentate în detaliu în etapa a II-a realizată în perioada 1.01-30.11.2009.

Utilizând esterii acizilor clor-fenoxiacetici sulfonamidați, obținuți de asemenea în etapa a II-a, s-au sintetizat derivații de 1-amidosulfonil-fenoxiacetil-3,5-dimetil-pirazoli. Pentru aceasta se pleacă de la esterii amidosulfonil-clor-fenoxiacetici care prin tratare cu hidrazină conduc la hidrazidele acizilor amidosulfonil-clor-fenoxiacetici care prin condensare cu acetilacetonă în absența catalizatorilor sau în prezența acestora conduc la derivați dimetilpirazonici conform schemei:

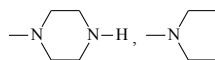


În toate reacțiile prezentate mai sus, care descriu metodele generale concepute pentru sinteza derivaților propuși a fi obținuți, radicalii R pot fi:

R este o-clor, p-clor,

R₁ este H, CH₃, C₂H₅,

R₂ este H, CH₃, C₂H₅,



Produsele obținute au fost purificate și caracterizate astfel încât să poată fi utilizate în experimentări biologice pentru a stabili spectrul de acțiune și intensitatea efectelor generate.

Obținerea sărurilor derivaților amidosulfonil-clor-fenoxiacetici se realizează sub două forme și anume:

- Soluții apoase de anumite concentrații ale sărurilor acizilor amidosulfonil-clor-fenoxiacetici.
- Săruri ale acizilor amidosulfonil-clor-fenoxiacetici sub formă de substanțe solide cristaline caracterizate fizico-chimic.

Produsele finale, obținute în toate cazurile, sunt purificate și caracterizate structural prin metode adecvate.

Activitatea III.3.

Studii experimentale de sinteză a noi derivați ai acizilor amidosulfonil-clor-fenoxiacetici și a sărurilor lor

a. Descrierea științifică și tehnică a etapei a III-a, rezultate și gradul de realizare a obiectivelor.

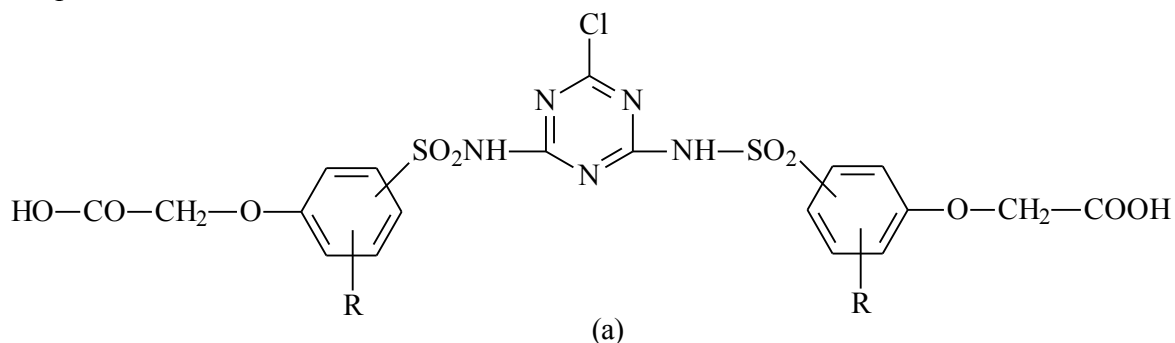
Rezultatele cercetărilor privind efectele biostimulatoare ale produselor din seria I sintetizate în cadrul etapei a II-a au evidențiat că unii dintre produsele studiate, sub aspectul acțiunii biologice și a efectelor produse la culturile de grâu și tomate, determină la concentrații foarte mici, de ordinul a 10-15 ppm, creșteri însemnate a producției de grâu și tomate.

Aceste rezultate au impus sinteza si a altor tipuri de derivati amidosulfonil-clor-fenoxiacetici ce se înscriu în seria I-a (asa cum a fost clasificată în programul de cercetare structura generală a clasei de derivati amidosulfonil-clor-fenoxiacetici abordati în prezentul studiu).

A fost abordată sinteza de noi derivati de 1,3,5-triazin-2-clor-4,6-diamidosulfonil-clor-fenoxiacetici si sinteza de noi 1-amidosulfonil-clor-fenoxiacetil-3,5-dimetilpirazol.

Sinteza si caracterizarea derivatilor de 1,3,5-triazin-2-clor-4,6-diamidosulfonil-R-fenoxiacetici

Structura generală a derivatilor de 1,3,5-triazin-2-clor-4,6-diamidosulfonil-R-fenoxiacetici poate fi reprezentată astfel:



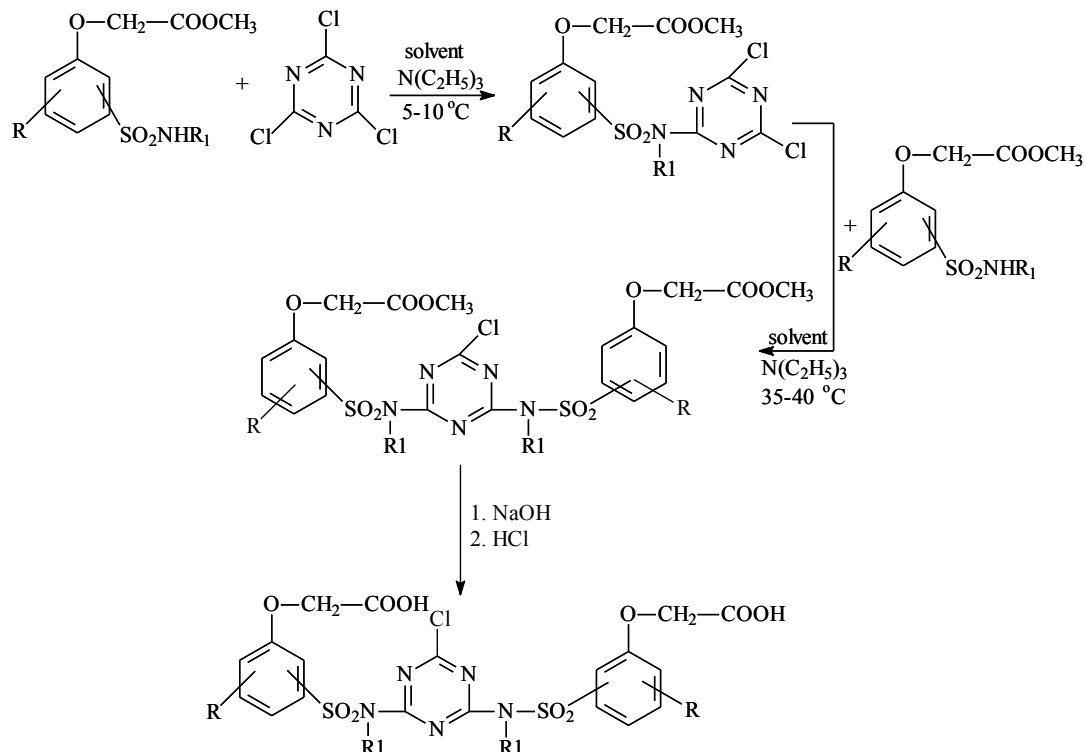
unde: R= -H; -o-clor; p-clor; -O-CH₂-COOH.

Pentru obtinerea seriei derivatilor de 1,3,5-triazin-2-clor-4,6-diamidosulfonil-R-fenoxiacetici s-au elaborat două metode de sinteză, în functie de materiile prime de la care se porneste în sinteza, metode descrise mai jos.

Metoda A

În această metodă se folosesc ca materii prime 2-clor-4,6-diamino-1,3,5-triazină si sulfoclorurile esterilor clorfenoxiacetici sau sulfoclorurile esterilor fenoxiacetici. Obținerea sulfoclorurilor esterilor mentionati a fost studiată în cadrul etapei a II-a, iar aici, în etapa a III-a, sulfoclorurile esterilor fenoxiacetici sunt utilizate ca materii prime.

Obținerea, prin această metodă, a derivatilor de 1,3,5-triazin-2-clor-4,6-diamidosulfonil-R-fenoxiacetici este descrisă prin reactii consecutive, realizate în conditii specifice, reprezentate mai jos:



Realizarea practică a sintezei are loc într-un balon cu 3 gâturi de 500 ml, prevăzut cu refrigerent de reflux, termometru și agitator. Balonul este montat pe o baie termostatăă prevăzută cu sisteme de încălzire-răcire.

În balon se introduc 200ml metil-etil-cetonăși 25,5 g (0,25 moli) trietilamină se porneste sistemul de răcire al termostatului iar când temperatura ajunge la $10^\circ C$ se adaugă în porțiuni mici, sub continuă agitare, 29,90 g (0,1 moli) 2-clor-4-clorosulfonil-fenoxi-acetat de metil menținând temperatura sub $15^\circ C$. După adăugarea celor 29,90 g de sulfoclorură se continuă agitarea și se ridică treptat temperatura masei de reacție la $20^\circ C$, valoare la care se menține 30 minute. În continuare se adaugă, în porțiuni, sub agitare și menținerea temperaturii sub $25^\circ C$, cea de a doua parte de ester sulfoclorurat în cantitatea de 29,90 g. După terminarea adăugării sulfoclorurii se ridică treptat temperatura masei de reacție la $35^\circ C$ și se menține la această temperatură timp de 30 minute.

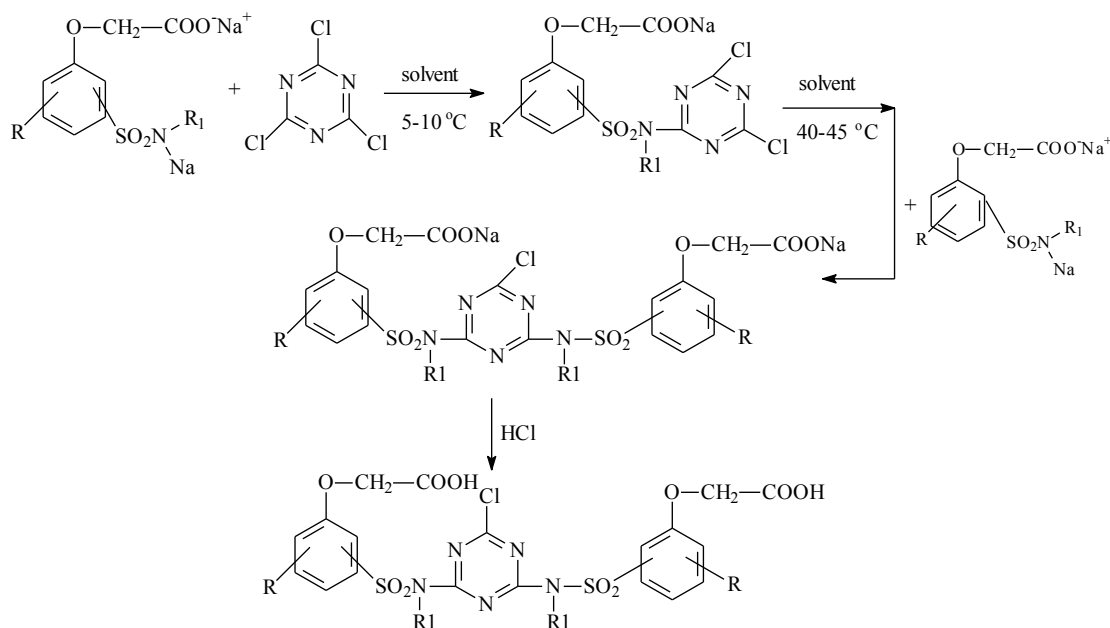
În final masa de reacție se răcește la $20^\circ C$ și se toarnă în fir subțire peste 600 ml apă rece când are loc precipitarea esterului triazin sulfonamido-clor-fenoxiacetic. Acesta se filtrează, apoi se readuce în balonul de reacție după care se adaugă 300 ml soluție hidroalcoolică 1:1 v/v și 11,2 g KOH. Amestecul obținut se încălzește la $40^\circ C$ și se menține la această temperatură timp de 35-40 minute, după care se adaugă cărbune activ și se filtrează la cald. Se obține o soluție clară din care prin acidulare la pH 3,5 precipită acidul 1,3,5-triazin-2-clor-4,6-diamidosulfonil-chlor-fenoxiacetic.

După filtrare și uscare se obțin 58,70 g (randament 92%) produs tehnic, iar după recristalizare din amestec apă-izopropanol-DMF 1:1:1 v/v rezultă 54,5 g (randament 85%) produs pur cu p.t.= $231^\circ C$.

$$N_{calc} = 10,9 \% ; N_{dozat} = 11,4\%; Cl_{dozat} = 5,57\%; Cl_{calc} = 5,52\%.$$

Metoda B

În această metodă se folosesc ca materii prime clorură de cianuril și sarea de sodiu a acizilor amidosulfonil R-fenoxiacetici. Obținerea prin această metodă a derivatilor 1,3,5-triazin-2-clor-4,6-diamidosulfonil-R-fenoxiacetici este descrisă tot prin reacții consecutive realizate în condiții specifice prezentate mai jos:



R- are aceeasi semnificatie ca si în metoda A.

Realizarea practică a acestor reactii are loc în instalatia prezentată la metoda A. În balon se introduc 5,53 g (0,03 moli) clorură de cianuril peste care se adaugă 50 ml acetonă, se agită până la dizolvare după care solutia obtinută se răcește la 5°C. În paralel se prepară 150 g solutie apoasă alcalină formată din 15,93 g (0,06 moli) acid 2-clor-4-amidosulfonil-fenoxiacetic, 6,72 g KOH și 127,35 ml apă.

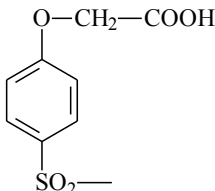
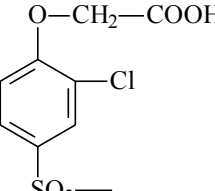
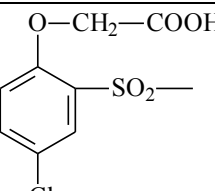
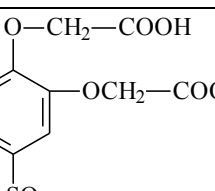
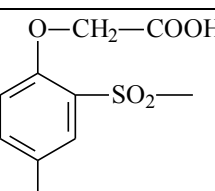
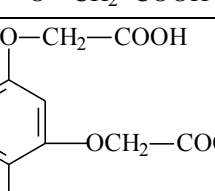
Peste solutia acetonică de clorură de cianuril răcită la 5°C se adaugă, în porțiuni, sub agitare 75 g solutie alcalină preparată mai sus. Adăugarea acestei solutii se face astfel încât temperatura din balon să nu depășească 10°C. Masa de reactie obtinută se mentine la această temperatura timp de 40-45 minute, după care se ridică temperatura la 40°C și începe adăugarea celor 75 g. solutie alcalină rămasă după prima treaptă de reactie. Adăugarea se face astfel încât temperatura din balon să nu depășească 45°C, iar după terminarea adăugării solutiei alcaline de sulfonamidă fenoxiacetică se continuă agitareamasei de reactie inca timp de 30-35 minute.

În final se distilă 40-42 ml acetonă după care masa de reactie se tratează cu HCl (1:1) până la pH= 3,5 pentru precipitarea produsului format.

După filtrare și uscarea produsului obtinut, acesta se purifică prin recristalizare din amestec acetonă-apă 3:1 v/v rezultând un produs pur cu p.t = 232°C.

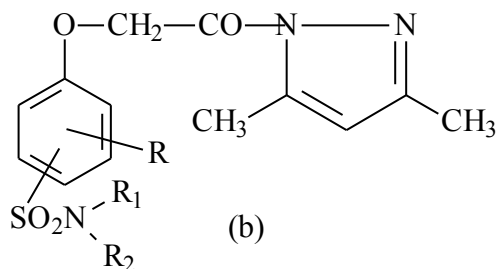
Utilizând aceste metode s-au sintetizat și caracterizat 6 noi produse prezentate în tabelul de mai jos:

Nr. crt	R	Metoda de sinteză	p.t °C	N %		Cl %	
				calc.	dozat	calc.	dozat

1		A, B	209-210	12,2	12,85 12,69	6,2	5,69
2		A,B	231-232	10,9	11,43 11,29	5,52	5,57
3		A,B	242	10,9	10,37 10,49	5,52	6,01
4		B	254	9,70	10,12	4,92	4,50
5		B	260-261	9,70	9,39	4,92	5,23
6		B	239-240	9,70	9,32 9,48	4,92	5,18

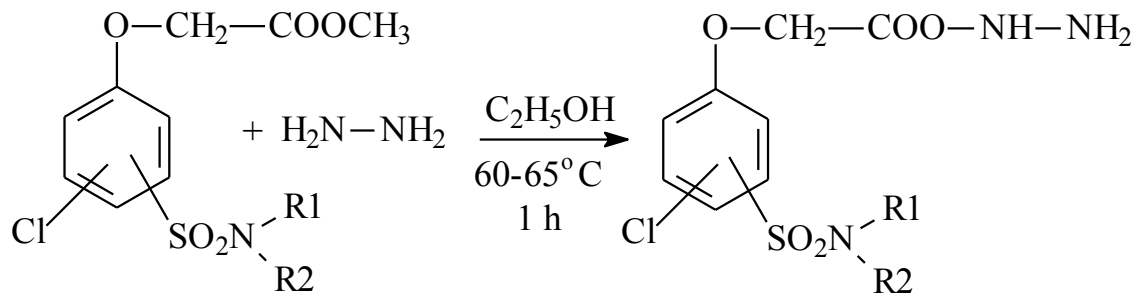
Sinteza și caracterizarea derivaților de 1-amidosulfonil-clor-fenoxiacetic-3,5-dimetilpirazol

Structura generală a derivaților de 1-amidosulfonil-clor-fenoxiacetil-3,5-dimetilpirazol este:



Pentru sinteza acestor derivați materiile prime sunt acetyl-acetona și hidrazidele acizilor amidosulfuril-clor-fenoxiacetici.

În studiile realizate la această etapă s-au obținut inițial hidrazidele acizilor amidosulfuril-clor-fenoxiacetici prin condensarea esterilor metilici ai acizilor amidosulfuril-clor-fenoxiacetici cu hidrazina conform reacției:



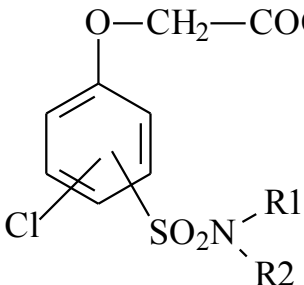
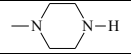
unde: R₁ este H, CH₃, C₂H₅,

R₂ este H, CH₃, C₂H₅, , 

Reacția de hidrazidare se realizează în mediu de alcool etilic, la 50-60°C, iar produsul de reacție se separă prin răcirea masei de reacție sub forma unor cristale albe, cu randamente de 80-85%.

Practic, într-un balon cu 3 găuri de 250 ml, prevăzut cu refrigerent și termometru se introduc 50-60 ml alcool etilic peste care se adaugă 0,02 moli ester metilic al acidului amidosulfonil-clor-fenoxiacetic, se agită pentru dizolvare după care se adaugă 0,021 moli hidrat de hidrazină – soluție apoasă de 80%. Masa de reacție se încălzește la 60-65°C timp de 1-1,5 ore după care se răcește la 20°C, când precipită hidrazida pură cu randamente de 80-85%, care se filtrează și se usucă la 35-40°C în curent de aer cald. Hidrazidele obținute s-au utilizat în reacția de condensare cu acetyl-acetona.

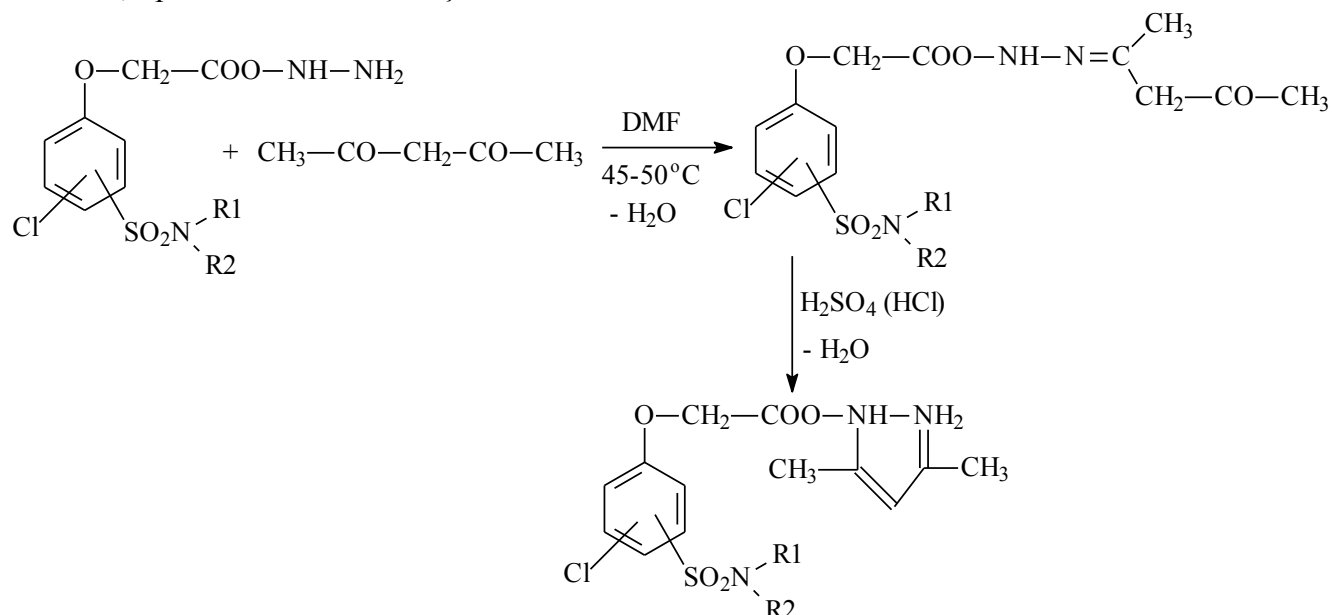
În acest mod au fost preparate hidrazidele prezentate în tabelul de mai jos.

$\text{O}-\text{CH}_2-\text{COO}-\text{NH}-\text{NH}_2$ 							
Nr. Crt.	R ₁	R ₂	Poziția clorurată	Solvent recristalizare	p.t. °C	N %	
						dozat	calculat
1	H	H	2-Cl	Etanol/apă=1/1 v/v	178	10,12	15,02
2	H	H	4-Cl	-, -	204	9,98	15,02
3	H	H	2,4-diclor	-, -	209	8,97	13,36
4	H	C ₂ H ₅	2-Cl	-, -	169	9,12	13,86
5	H	C ₂ H ₅	4-Cl	-, -	193	9,21	13,86
6	CH ₃	CH ₃	2-Cl	-, -	182	9,30	13,86
7	CH ₃	CH ₃	4-Cl	-, -	208	9,02	13,86
8	H		2-Cl	-, -	185	9,21	12,58
9	H		4-Cl	-, -	211	12,86	12,23

Pentru obținerea 1-amidosulfonil-clorfenoxi-acetil-3,5-pirazol prin condensarea esterilor amidosulfonil-clor-fenoxiacetici cu acetilacetonă s-au elaborat 3 metode de lucru care, în condiții diferite și cu performanțe diferite conduc la derivații pirazolici corespunzători.

Metoda A

Se realizează practic în două etape: în prima etapă are loc formarea unui derivat acetil-izopropilidenic care, în etapa a II-a se ciclizează în prezența unui agent de protonare conducând la derivat 3,5-pirazolic conform reacțiilor:



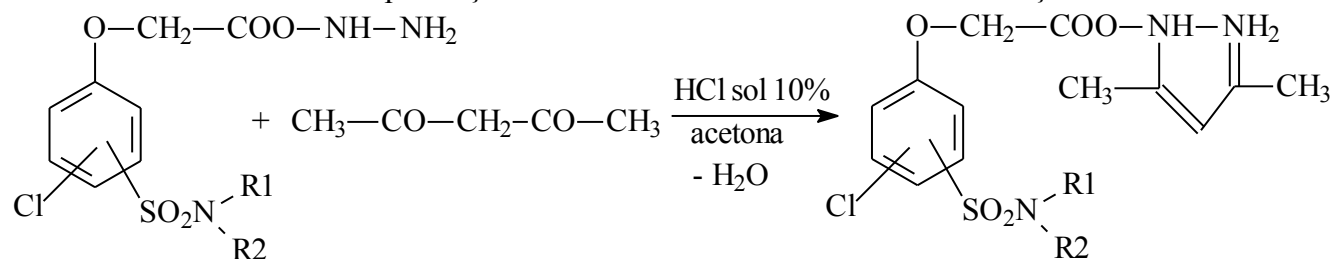
Această metodă s-a exemplificat prin condensarea hidrazidei acidului 2,4-diclor-6-amidosulfonil-fenoxiacetic cu acetilacetonă. Într-un balon de 100 ml prevăzut cu refrigerent de reflux se introduc 3,14 g (0,01 moli) hidrazidă a acidului 2,4-diclor-6-amidosulfonil-fenoxiacetic și 30 ml DMF (dimetil formamidă). Se încălzește amestecul la 45-50°C și se introduc 1,1 g (0,011 moli) acetilacetonă. Amestecul obținut se refluxează 30 min după care se răcește la 20°C și se toarnă peste 20-25 ml apă rece când precipită N-(acetilizopropiliden)-N-(2,4-diclor-6-amidosulfonil)-fenoxiacetil-hidrazida.

Aceasta se filtrează, se recrystalizează din metanol/apă 1/1 v/v rezultând 3,25 g compus cristalin care are p.t.=152°C, N% calc. 10,6%, N dozat 10,48% și un randament de 82%.

Acest produs intermediar cu structură izopropilidenică se dizolvă în 20 ml etanol după care se adaugă 0,1 ml acid sulfuric 80% sau 0,1 ml acid clorhidric 10% și se agită energic la 45-50°C timp de 60 min. În final se distilă solventul la presiune redusă iar prin răcire la 20°C separă 2,72 g 1-(2,4-diclor-6-amidosulfonil-fenoxiacetil)-3,5-dimetil-pirazol. Acesta recrystalizează din acetonă obținându-se cristale slab colorate cu p.t.=187°C, N% calc. 11,11%, N dozat 10,97% și un randament de 72%.

Metoda B

În această metodă condensarea hidrazidei acidului 2,4-diclor-6-amidosulfonil-fenoxiacetic cu acetilacetonă se realizează în prezența catalizatorului HCl sol 10% conform reacției:



Într-un balon de 100 ml se introduc 3,14 g (0,01 moli) hidrazida acidului 2,4-diclor-6-diamido-sulfonil-fenoxiacetic, peste care se adaugă 20 ml acetonă. Rezultă o suspensie peste care se adaugă 1,1 g (0,011 moli) acetilacetona și 0,1 ml HCl 10%. Amestecul se refluxează 1 oră după care, prin răcire, precipită produsul format. Acesta separă, se recrystalizează din acetonă, obținându-se final 3,17 g produs pur (randament 84%) cu p.t.=187°C (deci același produs ca și în metoda A, dar cu un randament superior).

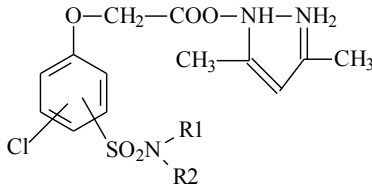
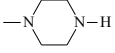
Metoda C

În această metodă se folosește drept catalizator clorură de zinc, reacția fiind descrisă prin ecuația chimică de la metoda B.

Realizarea acestei metode se face prin introducerea într-un balon de 100 ml a 20 ml DMF peste care se adaugă 3,14 g (0,01 moli) hidrazidă a acidului 2,4-di-clor-2-amidosulfonil fenoxiacetic, 1,1 g (0,011 moli) acetil acetona și 2,72 g ZnCl₂ anhidră.

Amestecul se refluxează la 60 °C timp de 30-35 de minute, până ce clorura de zinc trece în soluție prin dizolvare în apa rezultată din reacție. În final masa de reacție se răcește apoi se toarnă peste 30 ml apă rece când are loc cristalizarea produsului format. După recrystalizare din acetonă rezultă 3,36 g produs (randament 89%) cu p.t.= 187 °C.

Comparând randamentele realizate prin cele 3 metode studiate s-a optat, în sinteza derivatilor prezentați în tabelul de mai jos, la utilizarea metodelor B și C.

Nr. crt.						Metodă sinteză/ sistem recrist.	Randa ment	
	R ₁	R ₂	Cl	p.t °C	N %			
					dozat			calculat
1	H	H	2-Cl	179	11,88	12,22	C/DMF	87
2	H	H	4-Cl	183	12,03	12,22	B/DMF	89
3	H	H	2,4- diclor	187	11,49	11,08	B,C/acetonă	84,89
4	H	C ₂ H ₅	2-Cl	158	11,05	11,30	C/metanol	78
5	H	C ₂ H ₅	4-Cl	142	11,68	11,30	B/metanol	69
6	CH ₃	CH ₃	2-Cl	175	11,11	11,30	B/metanol	76
7	CH ₃	CH ₃	4-Cl	171	11,07	11,30	C/metanol	79
8	H		2-Cl	186- 188	10,85	10,54	C/metanol	89
9	H		4-Cl	201- 202	13,97	13,54	C/DMF	68

Structura derivatilor 1-amidosulfonil-clor-fenoxi-acetil-3,5-dimetilpirazol s-a confirmat și prin spectroscopie IR utilizând aparatul UNICAM-SP-100 și RMN la 300,1 MHz.

În spectrele IR s-au regăsit benzile specifice la 1720-1770 cm⁻¹ specific grupării carbonil, benzi la 1600 cm⁻¹ atribuite pentru legătura dublă -C=N și benzile de la 3250-3300 cm⁻¹ atribuite grupării sulfonamidice nesubstituie iar banda de la 3280-3300 cm⁻¹ grupării sulfonamidice monosubstituie.

Spectrul RMN a evidențiat grupările metilice din nucleul pirazolic prin picurile de la 2,19-2,20 ppm pentru gruparea CH₃ din poziția 3 și picurile de la 2,43-2,45 ppm pentru gruparea CH₃ din poziția 5. Protonul singular din poziția C-4 din pirazol este caracterizat prin picul de la 5,8 ppm iar protonii aromatici prin picurile de la 7,3-7,4 ppm și 7,8-7,9 ppm.

SARURILE ACIZILOR AMIDOSULFONIL- CLOR-FENOXIACETICI

Sărurile acizilor amidosulfonil-clor-fenoxiacetici reprezintă formele de solubilizare a acestora în vederea obținerii soluțiilor apoase care sunt utilizate apoi în studiul proprietăților biologice și a efectelor biostimulatoare pe care le produc utilizările acestor săruri în culturile de grâu și tomate.

Au fost preparate săruri de sodiu, potasiu dimetilamină și dietilamină de concentrație 2% din care prin diluție se obțin concentrații de ordinul ppm care se utilizează în experimentările acțiunilor biologice.

Practic în 976 ml apă se dizolvă 4,2 g KOH după care se adaugă 20 g acid 4-clor-2-amidosulfonil-fenoxiacetic când se obține o soluție perfect clară. Din această soluție se prelevează cantitățile necesare care prin diluție conduc la concentrații de 10, 13, 15, 20 ppm. concentrații utilizabile în studiul acțiunii acestui biostimulator asupra culturilor de grâu și tomate.

În mod similar se prepară soluția de sarea de sodiu din 3,01 g NaOH, 976 ml apă și 20 g acid 2-amidosulfonil-4-clor-fenoxiacetic precum și soluția de sarea de dimetilamoniu din 8,5 g soluție de 40% dimetilamină, 971,5 ml apă și 20 g acid 4-clor-2-amidosulfonil-fenoxiacetic.

Cu aceeași tehnică se prepară și soluțiile sărurilor celorlalți acizi amidosulfonil-clor-fenoxiacetici.

Pentru prepararea acestor săruri sub formă de substanțe solide se dizolvă 20 g acizi amidosulfonil-clor-fenoxiacetici în 100 ml acetona anhidră după care în soluția obținută se adaugă o soluție alcoolică de KOH, obținută prin dizolvarea a 4,2 g KOH în 50 ml alcool. Masa de reacție se agită ușor 20-25 minute când se formează cristalii de sare potasică a acizilor amidosulfonil-clor-fenoxiacetici care se separă prin filtrare și uscare.

Concluzii:

1. Cercetările realizate în cadrul etapei a III-a s-au materializat prin sinteza și caracterizarea seriei de noi acizi din grupa 1,3,5-triazin-2-clor-4,6-diamidosulfonil-fenoxiacetici precum și a seriei de 1-amidosulfonil-clor-fenoxiacetil-3,5-dimetilpirazol.
2. S-au elaborat metode specifice de sinteză a acestor serii de derivați biologici activi.
3. S-au stabilit metodele de obținere a sărurilor acizilor amidosulfonil-clor-fenoxiacetici sub formă de soluții apoase și sub formă cristalină.
4. Prin cercetările realizate (care reprezintă sarcinile etapei a III-a) și redactarea raportului de activitate au fost îndeplinite integral toate sarcinile prevăzute în planul de realizare al proiectului.

Diseminarea rezultatelor obținute

Rezultatele privind sinteza derivatilor amidosulfonil-clor –fenoxiacetici corelate cu rezultatele studiilor biologice privind evaluarea cantitativa a efectelor biostimulatoare evidentiate în etapa a II-a, realizata în anul 2009 și etapa a III-a realizata în anul 2010, în culturile de grâu și tomate constituie tema a doua brevete în curs de redactare folosind ca principiu de baza corelatia dintre efectului biostimulator și structura chimica a biostimulatorilor studiatii caracterizati prin toxicitate foarte redusa și biodegradabili.

Bibliografie

1. Holloy L.K. Australian Journal of Experimental Agriculture, 46(10), 1323, 2006
2. Yang G., Liu H., Pesticide Science, 55(12), 1143, 1999.
3. Curteanu S., Oniscu C., Dumitraşcu A., Rev. Chim. Buc., 58(11), 3303, 2007.
4. Oniscu C., Vlase C., Peşte G., Journal of Biomed. And Biotechnolog., 2009, p.1047.
5. Fuji K., Tanaka T., Fukuda Y., Jap.Pat. 0728 5942/19994.
6. Waldvogel E., Eichenbergher E., Eur. Pat. 702003/1994.
7. Trofin A., Oniscu C., Roumanian Biotech. Letters, 14(4), 4501, 2009.
8. Oniscu C., Trofin A., Roumanian Biotech. Letters, 14(6), 4835, 2009.

PARTENER P2

Conceperea si dezvoltarea de noi structuri chimice din clasa sulfamidelor utilizabile ca substante reglatoare de crestere inovative reprezinta preocuparea multor colective de cercetatori in domeniu.

In cadrul acestei etape, pe baza analizei critice a datelor de literatura au fost stabilite metodele desinteza pentru obtinerea de noi esteri sulfonamidati ai derivatilor fenoxiacetici. Conform Planului de realizare si a Schemei de lucru obiectivul acestei etape a fost sinteza unor compusi care se inscriu in urmatoarea structura generala:

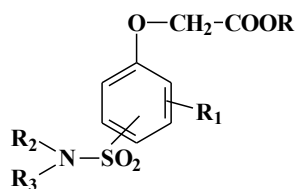
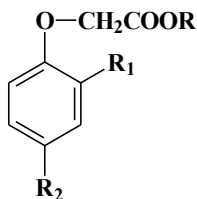


Figura 1

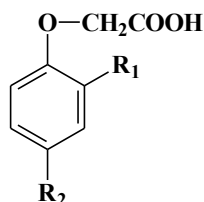
Unde : **R** = H, C₂H₅,
R₁ = o-Cl, p-Cl;
R₂, R₃ = heterociclu

Au fost obtinuti prin sinteza chimica intermediarii necesari si compusii din seria I. Structura intermediarilor si a compusilor obtinuti a fost confirmata prin analiza elementala, spectroscopie IR si RMN. Au fost sintetizati urmtorii intermediari:



Nr.Crt.	Denumire intermediar	R	R ₁	R ₂	p.t. C	Rand. %	Analiza elementala %				
							C _t /C _g	H _t /H _g	Cl _t /Cl _g	N _t /N _g	S _t /S _g
1	Acid 4-cloro-fenoxi acetic	H	H	Cl	157,5-159	90	51,5/51,23	3,78/3,65	19/18,86	-	-
2	Acid 2-cloro-fenoxi acetic	H	Cl	H	147,1-148,3	83	51,5/51,24	3,78/3,63	19/18,9	-	-
3	Esterul etilic al acidului 4-cloro-fenoxi acetic	C ₂ H ₅	H	Cl	49-50,1-	97	55,96/56,03	5,16/4,95	16,52/16,42	-	-
4	Esterul etilic al acidului 2-cloro-fenoxi acetic	C ₂ H ₅	Cl	H	29,7-30,7	88	55,96/56,19	5,16/5,01	16,52/16,36	-	-
5	Esterul etilic al acidului 2-clorosulfonil 4-cloro-fenoxi acetic	C ₂ H ₅	SO ₂ Cl	Cl	74,2-75,8	50	38,35/38,88	3,22/3,09	22,64/22,18	-	10,24/10,16
6	Esterul etilic al acidului 2-cloro-4-clorosulfonil 4 -fenoxi acetic	C ₂ H ₅	Cl	SO ₂ Cl	67,1-68,7	60	38,35/38,63	3,22/2,96	22,64/22,43	-	10,24/10,15
7	S-1A	C ₂ H ₅		Cl	86-86,9	55	51,13/51,39	5,9/5,6	9,43/9,48	3,73/4,0	8,53/8,71
8	S-1B	C ₂ H ₅		Cl	112,5-113,4	53	49,79/49,97	5,57/5,35	9,8/9,92	3,87/4,14	8,86/9,07
9	S- 1C	C ₂ H ₅	Cl		118,1-119	78	51,13/51,26	5,9/5,63	9,43/9,54	3,73/4,02	8,53/8,77
10	S -1D	C ₂ H ₅	Cl		104,6-106,1	93	49,79/49,85	5,57/5,35	9,8/9,90	3,87/4,21	8,86/8,98

Au fost sintetizati urmtorii compusi din seria I :



Nr. Crt.	Denumire compus	R ₁	R ₂	p.t. °C	Rand. %	Analiza elementala %				
						C _t /C _g	H _t /H _g	Cl _t /Cl _g	N _t /N _g	S _t /S _g
1	A-1A		Cl	-	92	48,35/ 48,24	5,22/ 5,21	10,19/ 10,16	4,03/ 4,02	9,22/ 9,20
2	A-1B		Cl	140,1- 142,2	85	46,78/ 46,50	4,83/ 4,95	10,62/ 10,59	4,20/ 4,31	9,60/ 9,79
3	A-1C	Cl		159,1- 160,2	79	48,35/ 48,24	5,22/ 5,20	10,19/ 10,17	4,03/ 4,01	9,22/ 9,30
4	A-1D	Cl		187,5- 189,3	76,5	46,78/ 46,14	4,83/ 4,88	10,62/ 10,63	4,20/ 4,27	9,60/ 9,73

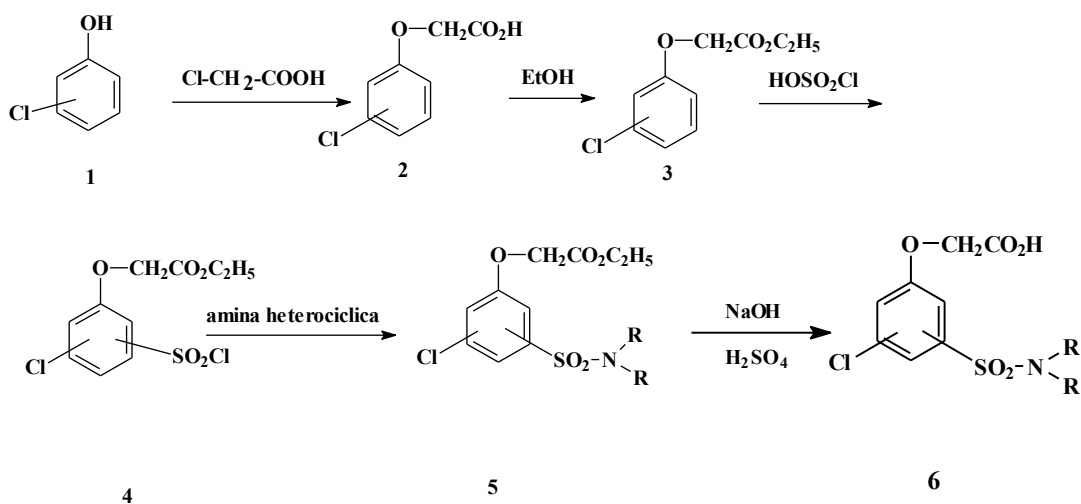
Doi dintre compusii sintetizati si anume: Acidul 2-cloro-4-amidosulfonil fenoxiacetic (A-2A) (obtinut prin sinteza chimica de catre P1-Universitatea Tehnica “Gh. Asachi” Iasi) si Acidul 2-cloro-4-(piperidino)-sulfonil-fenoxi acetic (A-1D) (obtinut prin sinteza chimica de catre P2- Institutul National de Cercetare-Dezvoltare Chimico-Farmaceutica Bucuresti) au fost caracterizati din punct de vedere toxicologic.

În conformitate cu Ghidul OECD nr. 420, probele testate:

- A-1AD se încadrează în Categoria 4 - SGA (Sistemul Global Armonizat de clasificare a substanțelor chimice care cauzează toxicitate acută), echivalent „Nociv” în Clasificare UE și
- A-2A se încadrează în Categoria 5 -Neclasificat – SGA, echivalent „Neclasificat” în Clasificare UE.

DESCRIEREA STIINTIFICA SI TEHNICA

Sinteza noilor biostimulatori din clasa esterilor sulfonamidati ai derivatilor fenoxiacetici se va realiza conform urmatoarei scheme de reactii (Schema Nr.1)



Schema Nr.1

Realizarea noilor compusi implica urmatoarele faze de sinteza:

-faza de obtinere a acizilor cloro-fenoxiacetici, si anume prin condensarea fenolatului de sodiu cu sarea de sodiu a acidului monocloroacetic, urmata de acidulare cu acid sulfuric;

- faza de esterificare a acizilor cloro-fenoxiacetici (2) in cataliza acida in vederea obtinerii esterilor (3);
- faza de clorosulfonare a esterilor(3);
- faza de condensare a sulfoclorurilor(4) cu amine heterociclice ;
- faza de hidroliza a compusilor (5) in vederea obtinerii derivatilor de acid fenoxiacetic (6).

Intermediarii si noii compusi sintetizati au fost caracterizati din punct de vedere analitic prin analiza elementala, spectroscopie in IR, H-RMN, C-RMN si prin cromatografie in strat subtire in vederea confirmarii structurii si puritatii.

Primele faze de sinteza, si anume:

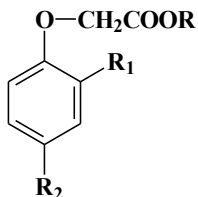
-faza de obtinere a acizilor cloro-fenoxiacetici, si anume prin condensarea fenolatului de sodiu cu sarea de sodiu a acidului monocloroacetic, urmata de acidulare cu acid sulfuric;

- faza de esterificare a acizilor cloro-fenoxiacetici (2) in cataliza acida in vederea obtinerii esterilor (3);

- faza de clorosulfonare a esterilor(3);

- faza de condensare a sulfoclorurilor(4) cu amine heterociclice ; au fost prezentate in cadrul referatului de cercetare elaborat in cadrul etapei anterioare, prezentata pe 30.11.2009.

Au fost obtinuti prin sinteza chimica urmatoorii intermediari:



Nr. Crt .	Denumire intermediar	R	R ₁	R ₂	p.t. °C	Rand. %	Analiza elementala %				
							C _t / C _g	H _t /H g	Cl _t / Cl _g	N _t / N _g	S _t / S _g
1	Acid 4-cloro-fenoxi acetic	H	H	Cl	157,5 -159	90	51,5/ 51,23	3,78/ 3,65	19/ 18,86	-	-
2	Acid 2-cloro-fenoxi acetic	H	Cl	H	147,1 - 148,3	83	51,5/ 51,24	3,78/ 3,63	19/18,9	-	-
3	Esterul etilic al acidului 4-cloro-fenoxi acetic	C ₂ H ₅	H	Cl	49- 50,1-	97	55,96/ 56,03	5,16/ 4,95	16,52/ 16,42	-	-
4	Esterul etilic al acidului 2-cloro-fenoxi acetic	C ₂ H ₅	Cl	H	29,7 30,7	88	55,96/ 56,19	5,16/ 5,01	16,52/ 16,36	-	-
5	Esterul etilic al acidului 2-clorosulfonil 4-cloro-fenoxi acetic	C ₂ H ₅	SO ₂ Cl	Cl	74,2- 75,8	50	38,35/ 38,88	3,22/ 3,09	22,64/ 22,18	-	10,24/ 10,16
6	Esterul etilic al acidului 2-cloro-4-clorosulfonil 4 - fenoxi acetic	C ₂ H ₅	Cl	SO ₂ Cl	67,1- 68,7	60	38,35/ 38,63	3,22/ 2,96	22,64/ 22,43	-	10,24/ 10,15
7	S-1A	C ₂ H ₅		Cl	86- 86,9	55	51,13/ 51,39	5,9/ 5,6	9,43/ 9,48	3,73/ 4,0	8,53/ 8,71
8	S-1B	C ₂ H ₅		Cl	112,5 - 113,4	53	49,79/ 49,97	5,57/ 5,35	9,8/ 9,92	3,87/ 4,14	8,86/ 9,07
9	S- 1C	C ₂ H ₅	Cl		118,1 -119	78	51,13/ 51,26	5,9/ 5,63	9,43/ 9,54	3,73/ 4,02	8,53/ 8,77

10	S -1D	C ₂ H ₅	Cl		104,6 - 106,1	93	49,79/ 49,85	5,57/ 5,35	9,8/ 9,90	3,87/ 4,21	8,86/ 8,98
----	-------	-------------------------------	----	---	---------------------	----	-----------------	---------------	--------------	---------------	---------------

In cadrul acestei etape se va prezenta :

- faza de hidroliza a compusilor (5) in vederea obtinerii derivatilor de acid fenoxiacetic (6).

Reactia de hidroliza se realizeaza in mediu bazic, utilizand o solutie 2N de hidroxid de sodiu.

Parametrii reactiei de hidroliza, stabiliti in urma studiului experimental de laborator sunt:

- Raportul molar- ester: NaOH este de 1:2,5;
- Timp de reactie -1 ora;
- Temperatura – temperatura de reflux

Mod principal de lucru

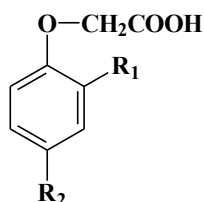
Peste o solutie de hidroxid de sodiu 2N se adauga esterul sulfonamidat (5), dupa care masa de reactie se incalzeste la reflux timp de o ora, cand faza solida trece complet in solutie. Se adauga carbune activ si se filtreaza la cald. Solutia racita la 20-25⁰C se aciduleza cu acid sulfuric 10% (pH final 2), obtinandu-se astfel acizii fenoxiacetici (6) puri.

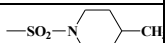
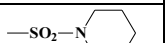
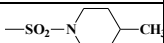
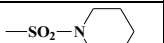
Compusii astfel sintetizati au fost caracterizati din punct de vedere analitic prin: analiza elementala, spectroscopie IR si RMN.

Puritatea compusilor a fost verificata prin cromatografie in strat subtire :

- faza stationara: silicagel GF 254;
- faza mobila: benzen:metanol:acid acetic=30:2,5:2,5.

Prin acest mod au fost sintetizati compusii prezentati in tabelul de mai jos:



Nr. rt.	Denumire compus	R ₁	R ₂	p.t. °C	Rand. %	Analiza elementală %				
						C _t / C _g	H _t /H g	Cl _t / Cl _g	N _t / N _g	S _t / S _g
1	A-1A		Cl	-	92	48,35/ 48,24	5,22/ 5,21	10,19/ 10,16	4,03/ 4,02	9,22/ 9,20
2	A-1B		Cl	140,1- 142,2	85	46,78/ 46,50	4,83/ 4,95	10,62/ 10,59	4,20/ 4,31	9,60/ 9,79
3	A-1C	Cl		159,1- 160,2	79	48,35/ 48,24	5,22/ 5,20	10,19/ 10,17	4,03/ 4,01	9,22/ 9,30
4	A-1D	Cl		187,5- 189,3	76,5	46,78/ 46,14	4,83/ 4,88	10,62/ 10,63	4,20/ 4,27	9,60/ 9,73

Sinteza Acidului 2-[(4'-metil-piperidino)-sulfonil]-4-cloro-fenoxi acetic -A-1A –

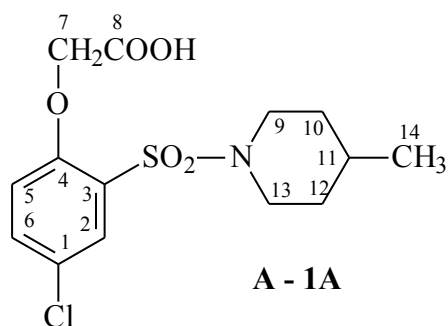
Peste o solutie formata din 25 ml hidroxid de sodiu 2 N si 25 ml apa se adauga 2-(4'-metil-piperidino)-sulfonil-4-cloro-fenoxi acetat de etil - S-1A (0,02 moli, 7,5 g). Masa de reactie se incalzeste la reflux timp de o ora, dupa care se adauga carbune activ si se filtreaza. Solutia racita la 20-25⁰C se aciduleaza (pH 2) cu o solutie de Acid sulfuric 10 % si se extrage cu clorura de metilen (2 x 50ml). Stratul organic separat se spala cu 50 ml apa, apoi se usuca pe sulfat de sodiu anh. si se concentreaza la evaporatorul rapid. Produsul brut se dizolva in 50 ml etanol, se concentraza la sec, cand se formeaza acidul 2-[(4'-metil-piperidino)-sulfonil]-4-cloro-fenoxi acetic (A-1A)- sub forma de ulei. rand. 92 %,

cromatografie in strat subtire : $R_f=0,423$ (faza stationara: silicagel GF 254, faza mobila: benzen:metanol:acid acetic=30:2,5:2,5)

$C_{14}H_{18}ClNO_5$ $M=347,8112$ g/mol

Valori teoretice: C: 48,35% H: 5,22 % Cl: 10,19% N: 4,03% S: 9,22 %

Valori gasite : C: 48,24% H: 5,21 % Cl: 10,16 % N: 4,02% S: 9,20%



1H -NMR(dmso- d_6 , δ ppm, J Hz): 7.95(s, 1H, HOOC, deuterable); 7.70(d, 1H, H-2, 2.7); 7.63(dd, 1H, H-6, 2.7, 8.9); 7.16(d, 1H, H-5, 8.9); 4.88(s, 2H, H-7); 3.66(m, 2H, H-11_{eq}, H-15_{eq}, $^{gem}J(H^{11eq}-H^{11ax})=^{gem}J(H^{15eq}-H^{15ax})=12.4$ Hz); 2.67(td, 2H, H-11_{ax}, H-15_{ax}, $^{gem}J(H^{11eq}-H^{11ax})=^{gem}J(H^{15eq}-H^{15ax})=12.3$ Hz, $^3J(H^{11ax}-H^{12ax})=12.3$ Hz, $^3J(H^{11ax}-H^{12eq})=2.0$ Hz); 1.61(dd, 2H, H-12_{eq}, H-14_{eq}, $^{gem}J(H^{12ax}-H^{12eq})=^{gem}J(H^{14ax}-H^{14eq})=12.3$, $^3J(H^{14}-H^{13})=^3J(H^{14}-H^{15})=2.0$); 1.37(m, 1H, H-13); 1.08(dt, 2H, H-12_{ax}, H-14_{ax}, $^{gem}J(H^{12ax}-H^{12eq})=^{gem}J(H^{14ax}-H^{14eq})=12.3$, $^3J(H^{14}-H^{13})=^3J(H^{14}-H^{15})=4.3$); 0.87(d, 3H, H-16, 6.5).

^{13}C -NMR(dmso- d_6 , δ ppm): 169.10(C-8); 154.05(C-4); 133.84(C-6); 129.87(C-2); 127.95(C-3); 124.14(C-1); 115.78(C-5); 65.21(C-7); 45.61(C-11, C-15); 33.45(C-12, C-14); 29.63(C-13); 21.29(C-16).

FT-IR(ATR in solid, ν cm^{-1}): 3077w; 2927m; 2868m; 2522bb; 1783m; 1670vs; 1640vs; 1591m; 1472s; 1442m; 1385s; 1331s; 1297m; 1253m; 1213s; 1153vs; 1105m; 1074s; 1051s; 958w; 928m; 892w; 816w; 764w; 670w; 599m; 575m.

bb – broad band

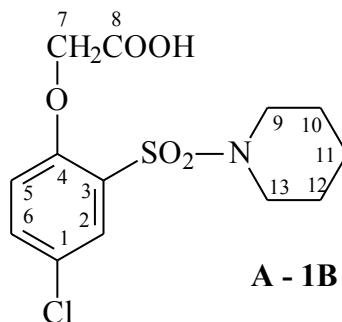
Sinteza Acidului 2-[(piperidino)-sulfonil]-4-cloro-fenoxi acetic -A-1B –

Peste o solutie formata din 25 ml hidroxid de sodiu 2 N si 25 ml apa se adauga 2-(metil-piperidino)-sulfonil-4-cloro-fenoxi acetat de etil - S-1B (0,02 moli, 6,67 g). Masa de reactie se incalzeste la reflux timp de o ora, dupa care se adauga carbune activ si se filtreaza. Solutia racita la 20-25 $^{\circ}C$ se aciduleaza (pH 2) cu o solutie de acid sulfuric 10 % cand precipita acidul 2-[(piperidino)-sulfonil]-4-cloro-fenoxi acetic (A-1B). p.t. 140,1-140,2 $^{\circ}C$, rand. 85 %, cromatografie in strat subtire : $R_f=0,39$ (faza stationara: silicagel GF 254, faza mobila: benzen:metanol:acid acetic=30:2,5:2,5).

$C_{13}H_{16}ClNO_5$ $M=333,7844$ g/mol

Valori teoretice: C: 46,78 % H: 4,83 % Cl: 10,62 % N: 4,20 % S: 9,60 %

Valori gasite : C: 46,50 % H: 4,95 % Cl: 10,59 % N: 4,31 % S: 9,79 %



$^1\text{H-NMR}$ (dmso- d_6 , δ ppm, J Hz): 7.69(d, 1H, H-2, 2.6); 7.64(dd, 1H, H-6, 2.6, 8.9); 7.16(d, 1H, H-5, 8.9); 4.89(s, 2H, H-7); 3.14(m, 4H, H-9, H-13); 1.50(m, 4H, H-10, H-12); 1.43(m, 2H, H-11).

$^{13}\text{C-NMR}$ (dmso- d_6 , δ ppm): 169.10(C-8); 154.03(C-4); 133.87(C-6); 129.90(C-2); 127.90(C-1); 124.20(C-3); 115.82(C-5); 65.20(C-7); 46.28(C-9, C-13); 25.31(C-10, C-12); 23.25(C-11).

FT-IR(ATR in solid, ν cm^{-1}): 3083w; 2941m; 2857m; 2581bb; 1736s; 1582w; 1475s; 1434s; 1390m; 1331vs; 1276vs; 1240vs; 1150vs; 1111m; 1057vs; 1024m; 941s; 853m; 820m; 765m; 700s; 693w; 650w; 584s.

In acelasi mod au fost sintetizati urmatorii compusi:

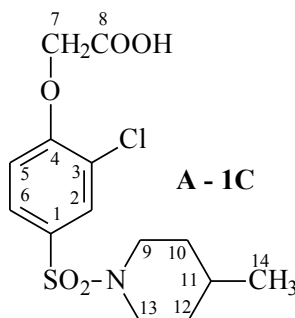
Acidul 2-cloro-4-[(4'-metil-piperidino)-sulfonil]-fenoxi acetic -A-1C –

Acidul 2-cloro-4-[(4'-metil-piperidino)-sulfonil]-fenoxi acetic (A-1C). p.t. 159,1-160,2 $^{\circ}\text{C}$, rand. 79 %, cromatografie in strat subtire : $R_f=0,37$ (faza stationara: silicagel GF 254, faza mobila: benzen:metanol:acid acetic=30:2,5:2,5).

$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{ClNSO}_5$ M=347,8112 g/mol

Valori teoretice: C: 48,35% H: 5,22 % Cl: 10,19% N: 4,03% S: 9,22 %

Valori gasite : C: 48,24% H: 5,20 % Cl: 10,17 % N: 4,01% S: 9,30%



$^1\text{H-NMR}$ (dmso- d_6 , δ ppm, J Hz): 7.73(d, 1H, H-6, 2.4); 7.64(dd, 1H, H-4, 2.4, 8.6); 7.26(d, 1H, H-3, 8.6); 4.95(s, 2H, H-7); 3.60(m, 2H, H-11 $_{\text{eq}}$, H-15 $_{\text{eq}}$, $^{\text{gem}}J(\text{H}^{11\text{eq}}-\text{H}^{11\text{axial}})=^{\text{gem}}J(\text{H}^{15\text{eq}}-\text{H}^{15\text{axial}})=11.5$ Hz); 2.22(td, 2H, H-11 $_{\text{ax}}$, H-15 $_{\text{ax}}$, $^{\text{gem}}J(\text{H}^{11\text{eq}}-\text{H}^{11\text{axial}})=^{\text{gem}}J(\text{H}^{15\text{eq}}-\text{H}^{15\text{axial}})=11.5$ Hz, $^3J(\text{H}^{11\text{ax}}-\text{H}^{12\text{ax}})=11.5$ Hz, $^3J(\text{H}^{11\text{ax}}-\text{H}^{12\text{eq}})=2.2$ Hz); 1.65(m, 2H, H-12 $_{\text{eq}}$, H-14 $_{\text{eq}}$); 1.12(dt, 2H, H-12 $_{\text{ax}}$, H-14 $_{\text{ax}}$, $^{\text{gem}}J(\text{H}^{12\text{ax}}-\text{H}^{12\text{eq}})=^{\text{gem}}J(\text{H}^{14\text{ax}}-\text{H}^{14\text{eq}})=12.7$ Hz, $^3J(\text{H}^{14}-\text{H}^{13})=^3J(\text{H}^{14}-\text{H}^{15})=3.9$ Hz); 1.29(m, 1H, H-11); 0.85(d, 3H, H-16, 6.5).

$^{13}\text{C-NMR}$ (dmso- d_6 , δ ppm): 169.05(C-8); 156.57(C-4); 128.88(C-2); 128.74(C-1); 128.02(C-6); 121.93(C-3); 115.95(C-5); 65.34(C-7); 46.03(C-9, C-13); 32.81(C-10, C-12); 29.19(C-11); 21.28(C-14).

FT-IR(ATR in solid, ν cm^{-1}): 2952m; 2927m; 2857m; 2841m; 2736w; 2583bb; 1740vs; 1711m; 1584m; 1487m; 1467m; 1451m; 1434s; 1388w; 1352m; 1335s; 1301m; 1285m; 1246vs; 1163vs; 1107s; 1092m; 1079s; 1046s; 993w; 965w; 921s; 890m; 861m; 815m; 792w; 767w; 718s; 647w; 653m; 618s; 569s; 497m.

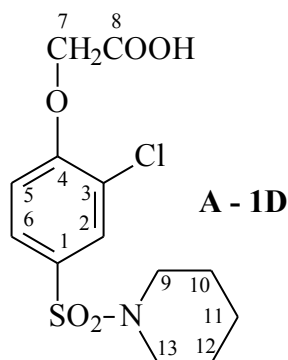
Acidul 2-cloro-4-[(piperidino)-sulfonil]-fenoxi acetic -A-1D –

Acidul 2-cloro-4-[(piperidino)-sulfonil]-fenoxi acetic (A-1D). p.t.187,5-189,3⁰C, rand. 66 %, cromatografie în strat subțire : R_f=0,35 (faza staționară: silicagel GF 254, faza mobilă: benzen:metanol:acid acetic=30:2,5:2,5).

C₁₃H₁₆ClNSO₅ M= 333,7844 g/mol

Valori teoretice: C: 46,78 % H: 4,83 % Cl: 10,62 % N: 4,20 % S: 9,60 %

Valori gasite : C: 46,14 % H: 4,88 % Cl: 10,63 % N: 4,27 % S: 9,73%



¹H-NMR(dmso-d₆, δ ppm, J Hz): 7.73(d, 1H, H-6, 2.4); 7.64(dd, 1H, H-4, 2.4, 8.6); 7.26(d, 1H, H-3, 8.6); 4.95(s, 2H, H-7); 2.89(bt, 4H, H-9, H-13, 5.4); 1.54(m, 4H, H-10, H-12); 1.37(m, 2H, H-11).

¹³C-NMR(dmso-d₆, δ ppm): 169.04(C-8); 156.57(C-4); 128.88(C-2); 128.61(C-6); 128.03(C-6); 121.92(C-3); 113.92(C-5); 65.34(C-7); 46.54(C-9, C-13); 24.64(C-10, C-12); 22.76(C-11).

FT-IR(ATR in solid, ν cm⁻¹): 2949m; 2864m; 2792m; 2728w; 2576bb; 1774s; 1708m; 1582m; 1480m; 1441s; 1386w; 1330s; 1273m; 1241vs; 1158vs; 1101s; 1077s; 1053m; 925s; 890m; 860m; 810w; 766w; 714s; 676w; 651m; 607m; 568s.

Caracterizarea toxicologică a derivatilor sulfonamidati (seria I)

Studii farmacotoxicologice - Toxicitatea acută

Considerații inițiale

Toxicitatea acută definește efectele adverse apărute într-un anumit interval de timp (de regulă 14 zile), după administrarea unei doze unice de substanță.

Efectele toxice acute ale unei substanțe și toxicitatea acesteia la nivelul organelor și sistemelor pot fi evaluate folosind teste de toxicitate prin care pot fi obținute indicații preliminare de toxicitate după doză unică.

Estimarea DL50 printr-un test de determinare a nivelurilor limită de dozare poate fi considerată în funcție de toxicitatea substanței testate.

Trebuie considerate prioritare metodele care utilizează un număr cât mai mic de animale și care reduc suferința animalelor, de exemplu metoda dozei fixe și metoda de estimare a intervalului de toxicitate.

Principiul metodei dozei fixe

Conform Ghidului de testare a substanțelor chimice OECD 420, testele de toxicitate acută orală furnizează informații despre efectele adverse care pot urma, într-o perioadă scurtă de timp, ingestiei unei doze unice de substanța de testat.

Studiul oferă informații despre relația doza-toxicitate, incluzând o estimare a dozei letale minime. De regulă, în acest studiu grupuri de câte 5 animale sunt tratate cu substanța test în doze de 5, 50, 300 și 2000 mg/kgc. În mod excepțional, se pot administra doze de 5000 mg/kgc în vederea identificării substanței cu toxicitate acută relativ scăzută, dar care poate prezenta un potențial pericol pentru categorii de populație, în anumite circumstanțe (Anexa 3).

Selectarea speciilor animale

Pentru studiu este recomandată utilizarea șobolanilor, fiind permise și alte rozătoare. În prezentul test s-au utilizat șoareci linia NMRI, femele negestante și nulipare, cu greutate de 18-20 g furnizați de Biobaza Institutului Cantacuzino, având certificat sanitar.

Condiții de microclimat

Animalele au fost cazate în cuști corespunzătoare, în grupuri mici. Temperatura camerei experimentale a vivariului ICCF a fost de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ și umiditatea relativă de 50-60%. Iluminarea s-a realizat artificial, alternativ 12 ore lumină/12 ore întuneric. Animalele au primit o hrană standardizată și apă *ad libitum*.

Cu 12 ore înaintea testului au fost ținute la post alimentar, fiind permis doar accesul la apă.

Pregătirea animalelor

Animalele au fost verificate la recepție și ținute în condițiile menționate pe o perioadă de 7 zile pentru aclimatizare, cu observarea stării clinice, a comportamentului, a consumului de hrană. S-au selecționat pentru test animalele care nu au prezentat variații ponderale mai mari de 20% din greutatea inițială.

S-au constituit loturi cu număr egal de animale pentru fiecare probă/doză.

Pregătirea probelor

Probele test A-1D și A-2A au fost administrate sub formă de suspensii obținute cu Tween 80 și apă distilată. Volumele de suspensie administrate prin gavaj intragastric au fost constante, de 0,5 ml/20 gc.

Probele test au fost administrate prin gavaj intragastric, în doze corespunzătoare dozelor recomandate pentru studiile efectuate la șobolani (5000, 2000, 300), respectiv 7000, 2800, 420 mg/kgc.

Testarea cu 5000 mg/kg (șobolan) se ia în considerare doar în cazul în care este foarte probabil ca rezultatele acestor teste să fie direct relevante pentru protecția sănătății animale sau a sănătății oamenilor.

Administrarea probelor

Probele de testat au fost administrate în doză unică, pe cale orală. Animalele au fost ținute sub observație clinică timp de 14 zile pentru fiecare doză în vederea evaluării efectelor induse.

Proba A-1D

Studiul a fost inițiat cu administrarea probei test în doză de 2800 mg/kgc șoarece la 1 animal, supraviețuitor.

S-a trecut la doza superioară conform protocolului, 7000 mg/kgc șoarece, la 1 animal, care a decedat.

Astfel, s-a revenit la doza 2800 mg/kgc șoarece, lot de 5 animale, la care s-au consemnat ulterior 2 decese.

Protocolul a impus administrarea unei doze inferioare, și anume de 420 mg/kgc șoarece la 1 animal, cu completarea la lot de 5. În acest caz nu s-au mai consemnat decese.

Proba A-2A

Studiul a fost inițiat cu administrarea probei test în doză de 2800 mg/kgc șoarece la 1 animal, supraviețuitor.

S-a trecut la doza superioară conform protocolului, 7000 mg/kgc șoarece, la 1 animal, care a decedat.

S-a revenit la doza 2800 mg/kgc șoarece, lot de 5 animale, la care nu s-au consemnat decese.

Observarea animalelor

După administrarea probelor, animalele au fost supravegheate în primele 4 ore, iar pe perioada de 14 zile au fost controlate zilnic.

În cazul probei A-1D în doză de 7000 mg/kgc s-au observat ptoză palpebrală, diminuarea progresivă a motilității spontane, secuse musculare, dispnee cu bradipnee, paloarea extremităților, cu decesul animalului survenit la 2 ore de la administrare. La doza 2800 mg/kgc s-au constatat ptoză palpebrală, tulburări de echilibru, reducerea motilității, dispnee, acrocianoză. S-au consemnat 2 decese în afara momentelor de observație. La doza 420 mg/kgc, animalele au prezentat episoade de somnolență, scormonirea așternutului, scărpinarea nasului, remise după aproximativ 2 ore; nu s-au observat alte semne evidente de toxicitate sau modificări de comportament spontan și alimentar.

În cazul probei A-2A în doză de 7000 mg/kgc, s-au observat oripilare, tulburare de postură, somnolență, diminuarea progresivă a motilității spontane. Decesul a survenit în afara momentelor de observație. La doza 2800 mg/kgc, s-au constatat oripilare, episoade de somnolență remise după 3 ore de la administrare, fără alte semne evidente de toxicitate sau alterări ale comportamentului spontan și alimentar.

Necropsia

După 14 zile de observație animalele supraviețuitoare au fost sacrificate în condițiile prevăzute de normele actuale și supuse unui examen necropsic. Examinarea macroscopică nu a relevat aspecte patologice în arhitectura tisulară a organelor parenchimatose sau cavitare, tulburări ale distribuției sanguine sau leziuni patologice la nivelul cavităților seroase.

CONCLUZII

Obiectivele etapei 3 :” Studii de experimentare biologică a derivatilor sulfonamidati (Seria I) ; Sinteza, caracterizarea structurală a sarurilor acizilor sulfonamidofenoxiacetici (Seria II) si studiul activității biostimulatoare a derivatilor din aceasta serie”

- Noi derivati sulfonamidati R-fenoxiacetici (Seria I);
 - Caracterizare structurală si toxicologică;
 - Noi saruri sulfonamido- fenoxiacetice (Seria II)
 - Caracterizare structurală si toxicologică;
- au fost indeplinite.

Au fost efectuate studii experimentale de sinteza în vederea obtinerii de noi acizi sulfonamidati ai derivatilor fenoxiacetici. Intermediarii si compusii noi sintetizati au fost caracterizati din punct de vedere structural prin: analiza elementală, spectroscopie IR si RMN.

Doi dintre compusii sintetizati si anume: Acidul 2-cloro-4-amidosulfonil fenoxiacetic (A-2A) (obtinut prin sinteza chimică de către P1-Universitatea Tehnică “Gh. Asachi” Iasi) si Acidul 2-cloro-4-(piperidino)-sulfonil-fenoxi acetic (A-1D)(obtinut prin sinteza chimică de către P2- Institutul National de Cercetare-Dezvoltare Chimico-Farmaceutica Bucuresti) au fost caracterizati din punct de vedere toxicologic.

În conformitate cu Ghidul OECD nr420, probele testate:

- A-1AD se încadrează în Categoria 4 - SGA (Sistemul Global Armonizat de clasificare a substanțelor chimice care cauzează toxicitate acută), echivalent „Nociv” în Clasificare UE și
- A-2A se încadrează în Categoria 5 -Neclasificat – SGA, echivalent „Neclasificat” în Clasificare UE.

Rezultatele obtinute pana în prezent în cadrul acestui contract au constituit obiectul

- **lucrării științifice** cu titlul : “Synthesis of new sulphonamide phenoxyacetic derivatives”, autori : Lucia Pintilie, Sultana Nita, Corneliu Oniscu, Miron Teodor Caproiu, ce a fost publicată în **Revista de Chimie**, (2010), **61**,(6),550-552;

- **lucrării științifice** cu titlul “New Sulphonamide Phenoxyacetic Derivatives”-poster, autori Lucia Pintilie, Sultana Nita, Miron Teodor Caproiu, Corneliu Oniscu, ce a fost prezentată –prezentată în cadrul manifestării științifice “**7th International Conference of Chemical Societies of South-Eastern European Countries**” ce a avut loc în perioada 15-17 septembrie 2010, Bucuresti

BIBLIOGRAFIE

1. Oniscu C.; Chimia si tehnologia medicamentelor, Ed.Tehnica, Bucuresti, 1988, pag. 301;
2. H.Sanielevici, F.Urseanu,;Sinteze de intermediari aromatici, Ed.Tehnica, Bucuresti, 1983,pag.93;
3. Oniscu C.,Cilianu St.,Dobrescu D., Brevet RO 110060,1997.
4. Oniscu C.,Ursu I.,Brevet RO 129897,2003
5. Oniscu C, Dumitrascu A., Anca Mocanu - Rouman. Biotechnol.Letters,**10**,no.3, 2005,p.2217
6. Curteanu Silvia, Oniscu C, Dumitrascu Adina, Rev. Chim. (Bucuresti), **58**, no.11, 2007.p.1085
7. Mocanu A, Curteanu S., Cernetescu C, Dumitrascu A., Oniscu C.-Roumanian Biotechnological Letters,**12**, no.4, 2007, p.3303.
8. H.R. Girisha, J.N. Narendra Sharath Chandra, etc. , Eur.J.Med. Chem.; **44**, 2009, p. 4057-4062,
9. OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, Section 4: Health Effects, OECD/OCDE – Test No. 420 Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure.
10. REGULAMENTUL (CE) NR. 440/2008 AL COMISIEI din 30 mai 2008 de stabilire a metodelor de testare în temeiul Regulamentului (CE) nr. 1907/2006 al Parlamentului European si al Consiliului privind înregistrarea, evaluarea, autorizarea si restrictionarea substantelor chimice (REACH)

PARTENER CO

Efectul unor fertilizanți și biostimulatori la realizarea cantitativă și calitativă a producției grâului de toamnă în condițiile ecologice din Câmpia Moldovei.

Creșterea producției agricole, cantitativ și calitativ este o preocupare esențială la nivel mondial, dar și în România.

Pentru creșterea cantitativă și calitativă a producției grâului, ca principală cereală pentru panificație se urmăresc următoarele :

a. măsuri tehnologice, prin luarea în cultură a noi terenuri și extinderea suprafețelor cultivate cu grâu, exploatarea judicioasă și cu mare randament a terenurilor destinate acestei culturi, perfecționarea mecanizării lucrărilor, aplicarea de măsuri pentru îmbunătățiri funciare și irigații, folosirea judicioasă a fertilizanților și pesticidelor, cu protecția agroecosistemelor, folosirea unor tehnici noi în cultura grâului, cum ar fi fertilizarea extraradiculară, utilizarea biostimulatorilor ;

b. măsuri de ordin general, economic și social cum ar fi utilizarea rațională a solurilor, dotarea cu mijloace materiale, tehnice și financiare, cooperarea pe plan național și european în domeniu.

Toate acestea au un impact direct asupra calității vieții prin cantități suficiente de alimente și de calitate superioară, care se pot obține și prin utilizarea stimulatoarelor biodegradabili, tot mai mult solicitați în agricultura sustenabilă.

Aplicarea extraradiculară a biostimulatorilor la grâu prezintă următoarele avantaje :

- se evită imobilizarea lor în sol ;
- se pot aplica în diferite fenofaze ale grâului ;
- se folosesc cantități mici de biostimulatori ;
- se pot aplica împreună cu alte tratamente ;
- se pot folosi mijloace moderne de aplicare (avioane, elicoptere, etc.)

Material și metoda de cercetare

Biostimulatorii, în diferite concentrații au fost aplicați în diferite fenofaze (și la diferite cultivare de grâu).

Cercetările s-au efectuat la ferma Ezăreni - Iași pe un sol mezocalcaric, subtipul cernoziom cambic, slab degradat, luto-argilos, de tipul Ap, Atp, Am, AB, Bv 1, Bv 2, Bv C, Cca 1, Cca 2, cu 2,93 % humus și 6,7 pH în stratul de sol 0-28 cm, 0,198 g/100 g sol azot, 1,2 g/100 g sol, fosfor mobil și 11,7 g/100 g sol, potasiu mobil.

Condițiile climatice din anul agricol 2009-2010 au fost favorabile grâului de toamnă.

În luna ianuarie 2010 s-a înregistrat o temperatură medie de 6,2⁰C sub zero față de 3,6 media multianuală. Temperaturi peste media multianuală s-au înregistrat în lunile aprilie, mai, iunie și iulie.

Precipitațiile din perioada octombrie 2009 – iulie 2010 au depășit media multianuală cu 68,6 mm. Precipitațiile din luna iunie 2010, cu 71,1 mm mai mari decât media multianuală au determinat o întârziere a recoltatului.

Experiențele au fost amplasate în parcele subdivizate cu trei factori după cum urmează :

Experiența 1 - Influența nutrienților, aplicați radicular și biostimulatorilor extraradicular, asupra producției grâului de toamnă cu trei factori :

Factorul A – Nutrienți cu cinci graduări :

a₁ – N₀P₀K₀

a₂ – N₆₀P₆₀K₆₀

a₃ – N₉₀P₉₀K₉₀

a₄ – N₁₂₀P₉₀K₉₀

a₅ – N₁₆₀P₉₀K₉₀

Factorul B - Biostimulatori cu trei graduări:

b₁- biostimulatorul BCO- 4DMA

b₂- biostimulatorul BCO- 4K

b₃- biostimulatorul BCO- 2 K

Factorul C- Biofaze de aplicare a biostimulatorilor :

c₁- biofaza de înfrățire și aplicare a erbicidelor

c₂- biofaza de „burduf”

c₃ – biofaza de înflorire deplină

Experiența 2 – Influența concentrației unor biostimulatori asupra producției la câteva soiuri de grâu de toamnă, cu trei factori :

Factorul A – Biostimulatori cu 3 graduări :

a₁- biostimulatorul BCO- 4DMA

a₂- biostimulatorul BCO- 4K

a₃- biostimulatorul BCO- 4 K + acetat de zinc

Factorul B – Concentrația biostimulatorilor cu 3 graduări :

b₁- 50 ppm

b₂- 25 ppm

b₃ – 12,5 ppm

Factorul C – Soiuri de grâu

c₁- soiul Boema

c₂- soiul Crina

c₃ – soiul Flamura 85

Experiența 3 – Influența epocii de aplicare a unor biostimulatori asupra grâului de toamnă cu 3 graduări :

Factorul A – Biostimulatori cu 3 graduări :

a₁- biostimulatorul BCO- 4DMA

a₂- biostimulatorul BCO- 2 K

a₃- biostimulatorul BCO- 2 K + acetat de zinc.

Factorul B – Concentrația biostimulatorilor cu 3 graduări :

b₁- 50 ppm

b₂- 25 ppm

b₃ – 12,5 ppm

Factorul C – Epoca de aplicare cu 3 graduări :

c₁- biofaza înfrățire

c₂- biofaza de „burduf”

c₃ – biofaza înflorire deplină

Toate variantele s-au cercetat în 4 repetiții. Dimensiunea parcelelor a fost : lungimea – 8 m ; lățimea 2 m ; suprafața – 16 m². În toamna anului 2009 s-a efectuat semănatul în arătură de vară, pe data de 23 octombrie. S-au folosit soiurile de grâu – Boema în experiențele 1 și 3 și soiurile Boema, Crina și Flamura 85 în experiența 2.

Semințele au fost tratate cu insectofungicide, distanța între rânduri fiind de 15 cm, iar adâncimea semănatului de 4-5 cm, cu o desime de 600 b.g./m. S-au făcut observații fenologice și măsurători biometrice, iar la recoltare s-au luat probe formate din 20 plante de grâu la care s-au făcut determinări privind înălțimea plantelor, numărul de spiculețe și boabe în spic, greutatea boabelor în spic, MMB.

Boabele de pe fiecare parcelă s-au cântărit, s-a determinat umiditatea, aducându-se producția la umiditatea STAS de 14,5 %.

Calculul statistic s-a făcut după metoda analizei varianței (Săulescu N.N. 1967).

REZULTATE OBTINUTE ÎN ANUL 2010

Experiența 1 - Influența nutrienților, aplicați radicular și biostimulatorilor extraradicular, asupra producției grâului de toamnă.

Interacțiunea dintre fertilizarea radiculară și aplicarea biostimulatorilor în diferite fenofaze ale soiului de grâu Boema (tabelul 1) au scos în evidență că numărul de spice la m² a fost cuprins între 582 spice/m² la interacțiunea N120P90K90 x BCO – 4 K x înflorire și 452 spice/m² la interacțiunea N₀P₀K₀ x

BCO-4 K x înfrățire, cu 452 spice/m², reprezentând 98,69 % din valoarea variantei martor (N₀P₀K₀ x BCO-4DMA x înfrățire).

Interacțiunea N₁₂₀P₉₀K₉₀ x BCO-4 K x înflorire, cu 582 spice/m² a realizat cu 124 spice/m² mai mult decât interacțiunea martor, diferența fiind foarte semnificativă.

Diferențe semnificative s-au realizat la două variante cu 90 kg la hectar și două variante cu 60 kg azot la hectar, când s-au folosit biostimulatorii BCO-2 K și BCO-4 K, cu aplicare la înflorire, cu excepția unei variante la care biostimulatorul a fost aplicat în biofaza de burduf.

Producția de cariopse în anul agricol 2009-2010.

În urma efectuării calcului statistic prin analiza varianței s-a determinat influența separată a factorilor cercetați și a interacțiunilor dintre factori și s-au constatat următoarele :

Ingrășămintele cu NPK aplicate radicular (tabelul 2), au determinat sporuri însemnate de producție în funcție de doza aplicată. Cea mai mare producție de cariopse, de 6803 kg/ha s-a obținut la fertilizarea cu N₆₀P₆₀K₆₀, sporul de 18,56 % fiind foarte semnificativ. O producție practic egală, de 6802 kg/ha s-a obținut și în varianta fertilizată cu N₁₆₀P₉₀K₉₀, prima variantă fiind mult mai economică decât varianta a doua. Cea mai mică producție s-a obținut la varianta nefertilizată (N₀P₀K₀)

Analizând efectul biostimulatorilor asupra producției de cariopse (tabelul 3) s-a constatat cea mai mare producție în varianta cu biostimulatorul BCO – 2 K cu 6824,23 kg/ha, cu un spor de 11,23 % față de varianta martor (BCO – 4 DMA), foarte semnificativ.

Pe locul al doilea s-a situat biostimulatorul BCO- 4 K cu o producție de 6674,9 kg/ha, sporul de 8,79 % fiind foarte semnificativ.

Tabelul 1

Influența fertilizării radiculare și a biostimulatorilor aplicați extraradicular în diferite fenofaze asupra numărului de spice la m² în anul agricol 2009-2010 (Soiul Boema)

Fertilizanți	Biostimulatori	Biofaza	Nr.spice/m ²	% față de Mt.	Diferența	Semnificația
N ₁₂₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 K	Înflorire	582	127,07	124	***
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-2 K	Inflorire	522	113,97	64	*
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	BCO-2 K	Burduf	521	113,76	63	*
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 K	Inflorire	514	112,23	56	*
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	BCO-2 K	Inflorire	513	112,01	55	*
N ₁₆₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 DMA	Inflorire	512	111,79	54	
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-2 K	Infrățire	512	111,79	54	
N ₁₂₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-2 K	Infrățire	511	111,57	53	
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-2 K	Burduf	510	111,35	52	
N ₁₆₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 K	Infrățire	507	110,70	49	
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	BCO-2 K	Infrățire	507	110,70	49	
N ₁₆₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-2 K	Infrățire	505	110,26	47	
N ₁₂₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-2 K	Burduf	503	109,83	45	
N ₁₂₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-2 K	Inflorire	502	109,61	44	
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 DMA	Burduf	502	109,61	44	
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	BCO-4 K	Inflorire	502	109,61	44	
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	BCO-4 DMA	Inflorire	502	109,61	44	
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4K	Burduf	501	109,39	43	
N ₁₆₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 K	Inflorire	500	109,17	42	
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 K	Infrățire	500	109,17	42	
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	BCO-4 K	Burduf	500	109,17	42	
N ₁₆₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 DMA	Burduf	499	108,95	41	
N ₀ P ₀ K ₀	BCO-2 K	Inflorire	499	108,95	41	
N ₁₆₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO- 2 K	Burduf	498	108,73	40	
N ₁₆₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-2 K	Burduf	498	108,73	40	

N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 DMA	Inflorire	498	108,73	40	
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	BCO-4 K	Infrățire	498	108,73	40	
N ₀ P ₀ K ₀	BCO-2 K	Burduf	498	108,73	40	
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO- 4 DMA	Infrățire	497	108,52	39	
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	BCO- 4 DMA	Burduf	497	108,52	39	
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	BCO- 4 DMA	Infrățire	497	108,52	39	
N ₀ P ₀ K ₀	BCO- 2 K	Infrățire	494	107,86	36	
N ₀ P ₀ K ₀	BCO- 4 K	Inflorire	492	107,42	34	
N ₁₂₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO- 4 K	Infrățire	489	106,76	31	
N ₁₆₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 DMA	Infrățire	488	106,55	30	
N ₁₆₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO- 2 K	Inflorire	478	104,37	20	
N ₀ P ₀ K ₀	BCO-4 DMA	Burduf	478	104,37	20	
N ₁₂₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 K	Burduf	472	103,06	14	
N ₀ P ₀ K ₀	BCO- 4 K	Burduf	472	103,06	14	
N ₀ P ₀ K ₀	BCO-4 DMA	Inflorire	469	102,40	11	
N ₀ P ₀ K ₀	BCO- 4 DMA	Infrățire	458	100,00	Mt.	
N ₁₂₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO- 4 DMA	Inflorire	455	99,34	-3	
N ₁₂₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO- 4 DMA	Burduf	455	99,34	-3	
N ₁₂₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO- 4 DMA	Infrățire	455	99,34	-3	
N ₀ P ₀ K ₀	BCO- 4 K	Infrățire	452	98,69	-6	

DL 5 % - 54,3 spice/m²

DL 1 % - 72,3 spice/m²

DL 0,1%- 94,2 spice/m²

Tabelul 2

Efectul fertilizării chimice asupra producției în anul 2009-2010 (soiul Boema)

Fertilizanți	Producția kg/ha	% față de Mt.	Diferența kg/ha	Semnificația
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	6803	118,56	1065	***
N ₁₆₀ P ₉₀ K ₉₀	6802	118,54	1064	***
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	6748	117,60	1010	***
N ₁₂₀ P ₉₀ K ₉₀	6627	115,49	889	***
N ₀ P ₀ K ₀	5738	100,0	Mt.	

DL 5 % - 113,5 kg/ha

DL 1 % - 159,3 kg/ha

DL 0,1%- 224,9 kg/ha

Tabelul 3

Efectul biostimulatorilor asupra producției de cariopse

Biostimulatori	Producția kg/ha	% față de Mt.	Dif. kg/ha	Semni- ficația
BCO - 2 K	6824,2	111,23	688,8	***
BCO - 4 K	6674,9	108,79	539,5	***
BCO- 4 DMA	6135,4	100,00	Mt.	

DL 5 % - 91,6 kg/ha

DL 1 % - 123,4 kg/ha

DL 0,1%- 163,8 kg/ha

Interacțiunea dintre fertilizarea radiculară cu NPK și aplicarea extraradiculară a biostimulatorilor a determinat sporuri însemnate de producție (tabelul 4).

Tabelul 4

Influența interacțiunii fertilizare x aplicarea biostimulatorilor asupra producției de cariopse la grâu în anul agricol 2009-2010 (soiul Boema)

Fertilizare radiculară	Biostimulatori	Producția kg/ha	% față de Mt.	Diferența kg/ha	Semnificația
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	BCO-2 K	7799,7	137,62	2132,0	***
N ₁₆₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-2 K	7247,0	127,86	1579,3	***
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 K	7030,7	124,05	1363,0	***
N ₁₂₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-2 K	6909,9	121,92	1242,2	***
N ₁₆₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 K	6894,3	121,64	1226,6	***
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	BCO-4 K	6883,1	121,44	1215,4	***
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 DMA	6775,5	119,55	1107,8	***
N ₁₂₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 K	6740,4	118,93	1072,7	***
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-2 K	6439,8	113,62	772,1	***
N ₁₆₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 DMA	6273,3	110,69	605,6	***
N ₁₂₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 DMA	6234,1	109,99	566,4	***
N ₀ P ₀ K ₀	BCO-4 K	5825,9	102,79	158,2	
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	BCO-4 DMA	5726,3	101,03	58,6	
N ₀ P ₀ K ₀	BCO-2 K	5724,3	101,00	56,6	
N ₀ P ₀ K ₀	BCO-4 DMA	5667,7	100,00	Mt.	

Pe primul loc s-a situat interacțiunea N₆₀P₆₀K₆₀ x BCO-2 K, cu o producție de 7799,7 kg/ha, sporul de producție fiind de 37,62 % (2132 kg/ha) foarte semnificativ, iar pe ultimul loc interacțiunea martor N₀P₀K₀ x BCO – 4 DMA, cu 5667,7 kg/ha. Rezultă din cele arătate că aplicarea biostimulatorilor pe agrofond fertilizat determină sporuri însemnate de producție.

Biofaza grâului când s-au efectuat tratamente cu biostimulatori (tabelul 5) a influențat producția grâului, dar în limite mai reduse.

Tabelul 5

Efectul biofazei de aplicarea biostimulatorilor asupra producției la grâu în anul 2009-2010 (soiul Boema)

Biofaza de aplicare	Producția kg/ha	% față de Mt.	Dif. kg/ha	Semnificația
Înflorire deplină	6695,9	103,59	232,0	***
Burduf	6474,6	100,17	10,7	
Înfrățire	6463,9	100,00	Mt.	

DL 5 % - 81,3 kg/ha

DL 1 % - 107,5 kg/ha

DL 0,1% - 139,0 kg/ha

Aplicarea biostimulatorilor la înflorire a determinat cea mai mare producție, de 6695,9 kg/ha, cu 3,59 % mai mare decât la aplicarea la înfrățire.

Aplicarea biostimulatorilor în biofaza de burduf n-a sporit producția semnificativ față de aplicarea la înfrățire.

Interacțiunea dintre cei trei factori, fertilizare radiculară x biostimulatori x biofaza de aplicare scoate în evidență capacitatea productivă a soiului Boema, producția ajungând până la 8518 kg/ha.

Cea mai mare producție, de 8518 kg/ha s-a obținut (tabelul 6) la interacțiunea $N_{120}P_{90}K_{90}$ x BCO – 4 K x înflorire, cu o diferență 3322,7 kg/ha, foarte semnificativă, față de varianta martor ($N_0P_0K_0$ x BCO - 4 DMA x înfrățire, cu 5195,3 kg/ha).

Pe primele unsprezece locuri s-a situat interacțiunile cu fertilizări radiculare de 120, 60, 90 și 160 kg/ha azot și biostimulatori ; BCO – 2 K și BCO – 4 K și diferite biofaze de aplicare a biostimulatorilor.

Majoritatea interacțiunilor dintre factori a realizat diferențe foarte semnificative de producție față de martor, care au oscilat între 3322,7 kg/ha și 943,2 kg/ha. În primele unsprezece variante, fertilizarea cu $N_{120}P_{90}K_{90}$ s-a găsit de două ori, fertilizarea cu $N_{60}P_{60}K_{60}$, de patru ori, iar fertilizarea cu $N_{90}P_{90}K_{90}$, de trei ori și $N_{160}P_{90}K_{90}$ de două ori.

Tabelul 6

Influența interacțiunii dintre factorii cercetați asupra producției de cariopse la grâu în anul 2009-2010 (soiul Boema)

Fertilizanți	Biostimulatori	Biofaza	Producția kg/ha	% față de Mt.	Diferența kg/ha	Semni- ficația
$N_{120}P_{90}K_{90}$	BCO-4 K	Înflorire	8518,0	163,96	3322,7	***
$N_{60}P_{60}K_{60}$	BCO-2 K	Burduf	8171,5	157,29	2976,2	***
$N_{60}P_{60}K_{60}$	BCO-2 K	Înflorire	7814,5	150,41	2619,2	***
$N_{160}P_{90}K_{90}$	BCO-2 K	Burduf	7649,8	147,24	2454,5	***
$N_{60}P_{60}K_{60}$	BCO-4 K	Infrățire	7586,8	146,03	2391,5	***
$N_{90}P_{90}K_{90}$	BCO-2 K	Burduf	7414,3	142,71	2219,0	***
$N_{60}P_{60}K_{60}$	BCO-2 K	Infrățire	7413,0	142,69	2217,7	***
$N_{90}P_{90}K_{90}$	BCO-4 K	Înflorire	7209,3	138,77	2014,0	***
$N_{120}P_{90}K_{90}$	BCO-2 K	Burduf	7185,0	138,30	1989,7	***
$N_{160}P_{90}K_{90}$	BCO-2 K	Infrățire	7157,3	137,76	1962,0	***
$N_{90}P_{90}K_{90}$	BCO-4 K	Infrățire	7101,8	136,70	1906,5	***
$N_{90}P_{90}K_{90}$	BCO-4 DMA	Înflorire	7062,0	135,93	1866,7	***
$N_{160}P_{90}K_{90}$	BCO-4 K	Infrățire	7050,3	135,71	1855,0	***
$N_{160}P_{90}K_{90}$	BCO-4 K	Înflorire	6991,3	134,57	1796,0	***
$N_{160}P_{90}K_{90}$	BCO-2 K	Înflorire	6934,0	133,47	1738,7	***
$N_{120}P_{90}K_{90}$	BCO-2 K	Înflorire	6872,8	132,29	1677,5	***
$N_0P_0K_0$	BCO-4 K	Înflorire	6820,8	131,29	1625,5	***
$N_{90}P_{90}K_{90}$	BCO-4 K	Burduf	6781,0	130,52	1585,7	***
$N_{90}P_{90}K_{90}$	BCO-4 DMA	Burduf	6696,3	128,89	1501,0	***
$N_{60}P_{60}K_{60}$	BCO-4 K	Burduf	6691,8	128,80	1496,5	***
$N_{120}P_{90}K_{90}$	BCO-2 K	Infrățire	6672,0	128,42	1476,7	***
$N_{160}P_{90}K_{90}$	BCO-4 K	Burduf	6641,3	127,83	1446,0	***
$N_{90}P_{90}K_{90}$	BCO-4 DMA	Infrățire	6568,3	126,43	1373,0	***
$N_{160}P_{90}K_{90}$	BCO-4 DMA	Înflorire	6463,8	124,42	1268,5	***
$N_{60}P_{60}K_{60}$	BCO-4 K	Înflorire	6370,8	122,63	1175,5	***
$N_{120}P_{90}K_{90}$	BCO-4 DMA	Infrățire	6311,0	121,48	1115,7	***
$N_0P_0K_0$	BCO-2 K	Infrățire	6298,3	121,23	1103,0	***
$N_{120}P_{90}K_{90}$	BCO-4 DMA	Înflorire	6237,3	120,06	1042,0	***
$N_{160}P_{90}K_{90}$	BCO-4 DMA	Infrățire	6179,3	118,94	984,0	***

N ₁₆₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 DMA	Burduf	6176,8	118,89	981,5	***
N ₁₂₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 K	Înfrățire	6163,5	118,64	968,2	***
N ₁₂₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 DMA	Burduf	6154,0	118,45	958,7	***
N ₀ P ₀ K ₀	BCO-4 DMA	Înflorire	6141,3	118,21	946,0	***
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-2 K	Înflorire	6138,5	118,15	943,2	***
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	BCO-4 DMA	Înfrățire	5779,5	111,24	584,2	**
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-2 K	Înfrățire	5766,8	111,00	571,5	**
N ₀ P ₀ K ₀	BCO-4 K	Înfrățire	5716,0	110,02	520,7	**
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	BCO-4 DMA	Burduf	5705,3	109,82	510,0	**
N ₀ P ₀ K ₀	BCO-2 K	Burduf	5704,8	109,81	509,5	**
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	BCO-4 DMA	Înflorire	5694,3	109,60	499,0	**
N ₀ P ₀ K ₀	BCO-4 DMA	Burduf	5666,5	109,07	471,2	**
N ₁₂₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4 K	Burduf	5539,8	106,63	344,5	**
N ₀ P ₀ K ₀	BCO-4 DMA	Înfrățire	5195,3	100,00	Mt.	
N ₀ P ₀ K ₀	BCO-2 K	Înflorire	5169,8	99,51	-25,5	
N ₀ P ₀ K ₀	BCO-4 K	Burduf	4941,0	99,11	-25,4	

DL 5 % - 345,1 kg/ha

DL 1 % - 456,1 kg/ha

DL 0,1%- 589,6 kg/ha

Biostimulatorul BCO - 4 K se regăsește între cele unsprezece interacțiuni de patru ori, iar BCO-2 K de șapte ori. Biofaza de aplicare a biostimulatorilor de înflorire, se găsește de trei ori, biofaza de burduf de patru ori, iar biofaza de înfrățire, de patru ori.

CONCLUZII ASUPRA REZULTATELOR OBTINUTE ÎN EXPERIENȚA 1.

- În condițiile ecologice ale anului agricol 2009-2010 fertilizarea cu N₆₀P₆₀K₆₀ a determinat cea mai mare producție de grâu, de 6803 kg/ha, cu un spor foarte semnificativ, de 1065 kg/ha față de varianta martor ;
- Biostimulatorul BCO – 2 K a realizat un spor de 688,8 kg/ha față de biostimulatorul martor – BCO – 4 DMA și de 149,3 kg/ha față de biostimulatorul BCO – 4 K ;
- Față de aplicarea biostimulatorilor în biofaza de înfrățire, la aplicarea în biofaza de înflorire s-a realizat un spor de producție de 232 kg/ha ;
- Interacțiunea dintre fertilizarea cu N₆₀P₆₀K₆₀ x BCO – 2 K a determinat o producție de 7799,7 kg/ha, cu 2132 kg/ha mai mare decât în varianta martor, N₀P₀K₀ x BCO 4 DMA, diferență foarte semnificativă ;
- Interacțiunea dintre cei trei factori a determinat cea mai mare producție de cariopse de 8518 kg/ha în varianta N₁₂₀P₉₀K₉₀ x BCO – 4 K x înflorire, cu o diferență de 3322,7 kg/ha, foarte semnificativă față de varianta martor.

Rezultatele obținute în experiența 2 – Influența concentrației unor biostimulatori asupra producției la câteva soiuri de grâu de toamnă.

Numărul de spice la unitatea de suprafață a fost influențat mai puțin , realizându-se cel mai mare număr la interacțiunea BCO-4 DMA x 25 ppm x Flamura 85, cu 506,7 spice/m², cu o diferență semnificativă față de varianta martor (BCO-4 DMA x 12,5 ppm x Boema (tabelul 7).

Producția de cariopse a fost influențată pozitiv de către biostimulatori în concentrații diferite, în funcție de soiul de grâu cultivat.

Astfel, biostimulatorul BCO-4 K + acetat de zinc a determinat o producție medie de 5148,1 kg/ha cu 11,62 % maimare decât producția variantei martor, BCO-4 DMA (4612,2 kg/ha), diferența fiind semnificativă (tabelul 8).

Amintim faptul că în această experiență nu s-au aplicat îngrășăminte chimice.

Tabelul 7

Influența biostimulatorilor aplicați în concentrații diferite asupra numărului de spice la m² la câteva soiuri de grâu de toamnă în anul agricol 2009-2010

Biostimulatori	Concentrația biostimulatorilor	Soiuri	Spice/m ²	% față de Mt.	Diferența spice/m ²	Semnificația
BCO –4 DMA	25 ppm	Flamura 85	506,7	102,72	13,4	*
BCO-4K+Zn	12,5 ppm	Crina	501,3	101,62	8,0	
BCO-4 DMA	50 ppm	Flamura 85	501,3	101,62	8,0	
BCO-4K+Zn	12,5 ppm	Flamura 85	499,3	101,22	6,0	
BCO-4 K	25 ppm	Boema	498,7	101,09	5,4	
BCO-4K+Zn	50 ppm	Flamura 85	496,7	100,69	3,4	
BCO-4 K	50 ppm	Crina	494,7	100,28	1,4	
BCO-4 K	12,5 ppm	Boema	494,0	100,14	0,7	
BCO-4K+Zn	25 ppm	Flamura 85	493,3	100,00	0,0	
BCO-4 DMA	12,5 ppm	Boema	493,3	1000.00	Mt.	
BCO-4K+Zn	12,5 ppm	Boema	492,3	99,80	-1,0	
BCO –4 DMA	25 ppm	Boema	492,0	99,74	-1.3	
BCO-4K+Zn	25 ppm	Boema	488,0	98,93	-5,3	
BCO-4 K	50 ppm	Boema	486,7	98,66	-6,6	
BCO –4 DMA	12,5 ppm	Crina	485m3	98,38	-8,0	
BCO-4 K	12,5 ppm	Flamura 85	484,0	98,11	-9,3	
BCO-4 K	25 ppm	Crina	484,0	98,11	-9,3	
BCO-4 K	50 ppm	Flamura 85	484,0	98,11	-9,3	
BCO-4 K	12,5 ppm	Crina	483,3	97,97	-10,0	
BCO –4 DMA	25 ppm	Crina	482,0	97,71	-11.3	
BCO-4K+Zn	50 ppm	Crina	481,3	97,57	-12,0	
BCO-4K+Zn	50 ppm	Flamura 85	479,3	97,16	-14,0	00
BCO –4 DMA	12,5 ppm	Flamura 85	478,7	97,04	-14,6	00
BCO –4 DMA	50 ppm	Crina	478,0	96,90	-15,3	00
BCO-4 K	25 ppm	Flamura 85	476,0	96,49	-17.3	000
BCO-4K+Zn	25 ppm	Crina	474,7	96,23	-18,6	000
BCO –4 DMA	50 ppm	Boema	466,7	94,61	-26,6	000

DL 5 % - 10,2 spice/m²

DL 1 % - 13,6 spice/m²

DL 0,1%- 18,0 spice/m²

Tabelul 8

Influența biostimulatorilor asupra producției la grâu în anul agricol 2009-2010

Biostimulatori	Producția kg/ha	% față de Mt.	Diferența kg/ha	Semnificația
BCO – 4 K+ Zn	5148,1	111,62	535,9	*
BCO – 4 K	4943,8	107,19	331,6	
BCO – 4 DMA	4612,2	100,00	Mt.	

DL 5 % - 388,8 ha
DL 1 % - 644,7 ha
DL 0,1%- 920 kg/ha

Aplicarea concentrațiilor diferite ale celor trei biostimulatori a diferențiat producția de cariopse (tabelul 9) de la 5230 kg/ha la concentrația de 50 ppm, la 4700,77 kg/ha la concentrația de 25 ppm, care, a realizat un minus de producție de 49,89 kg/ha față de varianta martor, concentrația de 12,5 ppm (4750,66 kg/ha).

Rezultă că o concentrație a biostimulatorilor de 50 ppm este mai favorabilă în medie.

Tabelul 9

Efectul concentrației biostimulatorilor asupra producției la grâu în anul agricol 2009-2010

Concentrația biostimulatori	Producția kg/ha	% față de Mt.	Diferența kg/ha	Semnificația
50 ppm	5230,33	110,09	479,67	***
12,5 ppm	4750,66	100,00	Mt.	
25,0 ppm	4700,77	98,95	-49,89	

DL 5 % - 210,0 kg/ha
DL 1 % - 294,8 kg/ha
DL 0,1%- 416,1 kg/ha

Soiurile de grâu folosite în experiență – Boema, Flamura 85 și Crina și-au diferențiat producțiile (tabelul 10), cea mai mare realizând-o Boema, cu 5123,9 kg/ha, urmat de Flamura-85, cu 4833,1 kg/ha (94,32 % din producția soiului Boema) și Crina, cu 4747,2 kg/ha (92,65 % din producția soiului Boema).

Tabelul 10

Influența soiurilor asupra producției la grâu în anul agricol 2009-2010

Soiuri	Producția kg/ha	% față de Mt.	Diferența kg/ha	Semnificația
Boema	5123,9	100,00	Mt.	
Flamura 85	4833,1	94,32	-290,8	00
Crina	4747,2	92,65	Mt.-376,7	000

DL 5 % - 202,8 kg/ha
DL 1 % - 271,8 kg/ha
DL 0,1%- 358,7 kg/ha

Interacțiunea dintre factorii cercetați a determinat influențe pozitive asupra producției, atât la interacțiunea între doi factori, cât și la interacțiunea între cei trei factori luați în cercetare.

Interacțiunea dintre biostimulatori și concentrațiile lor s-a materializat prin datele din tabelul 11. Pe primul loc s-a situat interacțiunea BCO 4 K + Acetat de Zn x 50 ppm, cu 5618,3 kg/ha, diferența de 30,13 % față de varianta martor fiind foarte semnificativă.

Tabelul 11

Influența biostimulatorilor asupra producției la grâu în anul agricol 2009-2010

Biostimulatori	Concentrația biostimulatorilor	Producția kg/ha	% față de Mt.	Diferența kg/ha	Semnificația
BCO 4 K+ Zn	50 ppm	5618,3	130,13	1300,9	***
BCO – 4 K	12,5 ppm	5217,2	120,84	899,8	***
BCO – 4 DMA	50 ppm	5170,1	119,75	852,7	***
BCO 4 K + Zn	25 ppm	5041,9	116,78	724,5	**
BCO – 4 K	50 ppm	4903,8	113,58	586,4	*
BCO 4 K + Zn	12,5 ppm	4784,0	110,81	466,6	
BCO – 4 K	25 ppm	4710,4	109,10	393,0	
BCO – 4 DMA	25 ppm	4349,1	100,73	31,7	
BCO – 4 DMA	12,5 ppm	4317,4	100,00	Mt.	

DL 5 % - 420,0 kg/ha
DL 1 % - 589,5 kg/ha
DL 0,1%- 832,2 kg/ha

Pe locul al doilea s-a situat biostimulatorul BCO- 4 K în concentrație de 12,5 ppm, cu o producție de 5217,2 kg/ha și o diferență foarte semnificativă față de martor, de 20,84 %. Biostimulatorul BCO – 4 DMA a realizat spor de producție foarte semnificativ numai la concentrația de 50 %, situându-se pe ultimile locuri la concentrațiile de 25,0 și 12,5 ppm.

Interacțiunea dintre cei trei factori (tabelul 12) a diferențiat producția de cariopse de la 6009 kg/ha la interacțiunea BCO 4 K + Ac. Zn x 50 ppm x Boema și 3889,7 kg/ha la interacțiunea BCO – 4 DMA x 12,5 ppm x Crina diferența între cele două interacțiuni fiind de 2119,3 kg/ha, foarte semnificativă.

Între primele zece interacțiuni, biostimulatorul BCO – 4 K + Ac. Zn se află de cinci ori, biostimulatorul BCO 4 K, se află de patru ori, iar biostimulatorul BCO – 4 DMA o singură dată. Tot în primele 10 variante, concentrația de 50 ppm se află de cinci ori, concentrația de 25 ppm se află de 2 ori, iar concentrația de 12,5 ppm se află de trei ori. Soiul Boema se află de patru ori, Flamura 85 de patru ori, iar soiul Crina de două ori.

Rezultă din cele prezentate influența pozitivă a interacțiunilor dintre biostimulatorul BCO – 4 K + Ac. Zn, concentrația de 50 ppm și soiul Boema

Față de anul 2008-2009, producțiile obținute în anul agricol 2009 – 2010 au fost mai mari cu 991 kg/ha – 1244,9 kg/ha.

Tabelul 12

Influența interacțiunii dintre cei trei factori cercetați asupra producției de cariopse la grâu în anul 2010

Biostimulatori	Concentrația biostimulatorilor	Soiuri	Producția kg/ha	% față de Mt.	Diferența	Semnificația
BCO 4 K + Zn	50 ppm	Boema	6009,0	120,95	1040,7	**
BCO –4 DMA	50 ppm	Flamura 85	5766,0	116,06	797,7	*
BCO 4 K + Zn	50 ppm	Flamura 85	5615,3	113,02	647,0	
BCO –4 K	12,5 ppm	Crina	5530,0	111,31	561,7	
BCO –4 K	50 ppm	Boema	5404,7	108,78	436,4	
BCO –4 K	25 ppm	Flamura 85	5374,3	108,17	406,0	
BCO 4 K + Zn	25 ppm	Boema	5352,3	107,73	384,0	
BCO 4 K + Zn	50 ppm	Crina	5230,7	105,28	262,4	
BCO –4 K	12,5 ppm	Flamura 85	5182,3	104,31	214,0	
BCO 4 K + Zn	12,5 ppm	Boema	5128,3	103,22	160,0	
BCO –4 K	50 ppm	Crina	5032,3	101,29	64,0	
BCO 4 K + Zn	25 ppm	Flamura 85	4992,7	100,49	24,4	
BCO 4 K + Zn	12,5 ppm	Crina	4979,0	100,22	10,7	
BCO –4 DMA	12,5 ppm	Boema	4968,3	100,00	Mt.	
BCO –4 K	12,5 ppm	Boema	4939,3	99,42	-29,0	
BCO –4 DMA	50 ppm	Crina	4895,0	98,52	-73,3	
BCO –4 K	25 ppm	Boema	4857,0	97,76	-111,3	
BCO –4 DMA	50 ppm	Boema	4849,3	97,60	-119,0	
BCO 4 K + Zn	25 ppm	Crina	4780,7	96,22	-187,6	
BCO –4 DMA	25 ppm	Boema	4606,3	92,71	-362,0	
BCO –4 DMA	25 ppm	Crina	4487,3	90,32	-481,0	
BCO –4 K	50 ppm	Flamura 85	4274,3	86,03	-494,0	
BCO 4 K + Zn	12,5 ppm	Flamura 85	4244,7	85,44	-723,6	0
BCO –4 DMA	12,5 ppm	Flamura 85	4094,3	82,41	-874,0	0
BCO –4 DMA	25 ppm	Flamura 85	3957,7	79,58	-1014,6	
BCO –4 K	12,5 ppm	Crina	3900,0	78,50	-1068,3	
BCO –4 DMA		Boema	3889,7	78,29	-1078,6	

DL 5 % - 702,6 kg/ha
DL 1 % - 941,4 kg/ha
DL 0,1%- 1242,5 kg/ha

Rezultate obținute în experiența nr. 3 – Influența epocii de aplicare a unor biostimulanti asupra grâului de toamnă în anul agricol 2009-2010.

Analizând influența separată a factorilor cercetați asupra numărului de spice la unitatea de suprafață s-a constatat o diferențiere, așa cum rezultă din tabelul 13.

Din analiza datelor obținute în tabelul 13 rezultă că cel mai mare număr de spice pe m² s-a înregistrat folosind biostimulatorul BCO-2 K + Acetat de Zn, cu 489,9 spice, cu 20,8 spice/m² mai mult decât în varianta martor (BCO – 4 DMA), diferența fiind distinct semnificativă.

Concentrația cea mai bună a biostimulatoarelor a fost de 25 ppm, cu 487,1 spice/m², iar biofaza cea mai pozitivă, la înflorire cu 486,4 spice/m², distinct semnificativă față de varianta martor (biofaza înfrățire).

Tabelul 13

Efectul biostimulatoarelor, concentrației și biofazelor de aplicare asupra numărului de spice/m² în anul agricol 2009-2010 (soiul Boema)

Specificare	Spice la m ²	% față de Mt.	Diferența spice/m ²	Semnific.	Diferența limită
Influența biostimulatoarelor asupra producției					
BCO-2 K + Acetat Zn	489,9	104,4	20,8	**	DL 5 % - 8,1
BCO – 2 K	486,4	103,7	17,3	**	DL 1 % - 13,4
BCO – 4 DMA	469,1	100,0	Mt.		DL 0,1 % - 25,1
Influența concentrației biostimulatoarelor					
25 ppm	487,1	100,3	1,9		DL 5 % - 5,6
12,5 ppm	485,2	100,0	Mt.		DL 1 % - 7,9
50 ppm	473,1	97,5	-12,1	000	DL 0,1 % - 11,2
Influența biofazei de aplicare a biostimulatoarelor					
Înflorire	486,4	101,9	9,1	**	DL 5 % - 5,1
Burduf	481,8	100,9	4,5		DL 1 % - 6,9
Înfrățire	477,3	100,0	Mt.		DL 0,1 % - 9,1

Interacțiunea dintre cei trei factori cercetați (tabelul 14) evidențiază biostimulatorul BCO- 2 K, în concentrație de 12,5 ppm, aplicat în biofaza de înflorire, cu 506,7 spice/m², cu o diferență foarte semnificativă de 50,7 spice/m².

În primele zece variante cu diferențe foarte semnificative față de varianta martor, biostimulatorul BCO – 2 K se găsește de cinci ori, biostimulatorul BCO - 2 K + acetat de Zn, de trei ori și biostimulatorul BCO – 4 DMA, de două ori. Tot în cele zece variante, concentrația biostimulatoarelor de 12,5 ppm se regăsește în cinci variante, concentrația de 25 ppm în trei variante și 50 ppm, în două variante. Dintre biofaze, cea de înflorire, se regăsește în cinci variante, de burduf, în trei variante și de înfrățire, în două variante.

Producția de cariopse în cadrul acestei experiențe a fost diferențiată în funcție de factorii cercetați și condițiile climatice. Factorii cercetați, analizați separat au realizat producțiile din tabelul 15.

Tabelul 14

Influența interacțiunii dintre factori asupra numărului de spice la m² la grâu de toamnă în anul agricol 2009-2010 (soiul Boema)

Biostimulatori	Concentrația	Biofaza de	Spice	% față de	Diferența	Semni-
----------------	--------------	------------	-------	-----------	-----------	--------

	biostimula- torilor	aplicare	la m ²	Mt.	spice/m ²	ficația
BCO -2 K	12,5 ppm	Inflorire	506,7	111,12	50,7	***
BCO -2 K	12,5 ppm	Infrățire	505,3	110,81	40,3	***
BOC – 2 K + Zn	12,5 ppm	Burduf	500,0	109,65	44,0	***
BOC – 2 K + Zn	25 ppm	Infrățire	498,7	109,36	42,7	***
BCO -2 K	25 ppm	Inflorire	498,7	109,36	42,7	***
BCO -2 K	50 ppm	Burduf	497,3	109,06	41,3	***
BCO – 4 DMA	25 ppm	Inflorire	497,3	109,06	41,3	***
BOC – 2 K + Zn	12,5 ppm	Inforire	496,0	108,77	40,0	***
BCO -2 K	50 ppm	Inflorire	496,0	108,77	40,0	***
BCO – 4 DMA	12,5 ppm	Burduf	494,7	108,49	38,7	***
BOC – 2 K + Zn	50 ppm	Burduf	493,3	108,18	37,3	**
BOC – 2 K + Zn	25 ppm	Inflorire	492,0	107,89	36,0	**
BOC – 2 K + Zn	50 ppm	Inflorire	490,7	107,61	34,7	**
BOC – 2 K + Zn	12,5 ppm	Infrățire	488,0	107,02	32,0	**
BCO – 4 DMA	25 ppm	Burduf	488,0	107,02	32,0	**
BCO – 4 DMA	25 ppm	Infrățire	482,7	105,86	26,7	**
BCO -2 K	25 ppm	Infrățire	481,3	105,55	25,3	*
BOC – 2 K + Zn	50 ppm	Infrățire	477,3	104,67	21,3	*
BOC – 2 K + Zn	25 ppm	Burduf	473,3	103,79	17,3	
BCO -2 K	25 ppm	Burduf	472,0	103,51	16,0	
BCO -2 K	12,5 ppm	Burduf	466,7	102,35	10,7	
BCO – 4 DMA	12,5 ppm	Infrățire	456,0	100,00	Mt.	
BCO -2 K	50 ppm	Infrățire	453,3	99,41	-2,7	
BCO – 4 DMA	12,5 ppm	Inflorire	453,3	99,41	-2,7	
BCO – 4 DMA	50 ppm	Infrățire	452,7	99,28	-3,3	
BCO – 4 DMA	50 ppm	Burduf	450,7	98,84	-5,3	
BCO – 4 DMA	50 ppm	Inflorire	446,7	97,96	-9,3	

DL 5 % - 18,9 spice/m²

DL 1 % - 26,5 spice/m²

DL 0,1%- 38,0 spice/m²

Tabelul 15

Efectul factorilor cercetați asupra producției de cariopse la grâul de toamnă în anul 2009-2010
(soiul Boema)

Specificare	Producția kg/ha	% față de Mt.	Diferența kg/ha	Semnific.	Diferența limită
Influența biostimulatorilor asupra producției					
BCO-2 K + Acetat Zn	5658	113,2	660,0	***	DL 5 % -212,2 kg/ha
BCO – 2 K	5302	106,08	304,0	*	DL 1 % - 351,9 kg/ha
BCO – 4 DMA	4998	100,00	Mt.		DL 0,1 % - 657,2 kg/ha
Influența concentrației biostimulatorilor asupra producției					
12,5 pp,	5704,0	100,00	Mt.		DL 5 % -205,9 kg/ha
25 ppm	5443,7	95,44	-260,3	0	DL 1 % - 289,0

					kg/ha
50 ppm	4812,8	84,38	-891,2	000	DL 0,1 % - 408,0 kg/ha
Influența biofazei de aplicare a biostimulatorilor asupra producției					
Burduf	5395,4	101,01	53,8		DL 5 % - 152,8 kg/ha
Înfrățire	5341,6	100,00	Mt.		DL 1 % - 204,8 kg/ha
Înflorire	5223,5	97,79	-118,1		DL 0,1 % - 270,3 kg/ha

În ceea ce privește influența biostimulatorilor asupra producției, cea mai mare producție de 5658 kg/ha s-a obținut cu biostimulatorul BCO – 2 K + acetat de Zn, urmată de biostimulatorul BCO – 2 K, cu 5302 kg/ha, cu diferențe foarte semnificative de 660 kg/ha și semnificative de 304 kg/ha față de varianta martor (BCO- 4 DMA).

Concentrația cea mai potrivită a fost de 12,5 ppm cu 5704 kg/ha. Față de această concentrație s-au obținut minusuri de producție asigurate statistic, de 260,3 kg/ha la concentrația de 25 ppm și de 891,2 kg/ha la concentrația de 50 ppm.

Fenofazele potrivite de aplicare a biostimulatorilor s-au dovedit biofazele de burduf cu 5395,4 kg/ha și de înfrățire cu 5341,6 kg/ha.

Interacțiunea dintre cei trei factori luați în cercetare a determinat sporuri însemnate de producție (tabelul 16). Cea mai ridicată producție de 6474,7 kg/ha s-a obținut la interacțiunea BCO – 2 K x 25 ppm x înflorire, cu o diferență de 813 kg/ha, semnificativă față de martor (BCO – 4 DMA x 12,5 ppm x înfrățire).

Tabelul 16

Influența interacțiunii dintre biostimulatori x concentrația de aplicare x biofaza tratamentului asupra producției de cariopse la grâul de toamnă în anul agricol 2009-2010(soiul Boema)

Biostimulatori	Concentrația biostimulat.	Biofaza de aplicare	Producția kg/ha	% față de Mt.	Diferența kg/ha	Semnificația
BCO -2 K	25 ppm	Înflorire	6474,7	114,36	813,0	*
BCO – 4 DMA	12,5 ppm	Burduf	6318,0	111,59	656,3	*
BCO-2 K + Zn	12,5 ppm	Burduf	6201,0	109,53	539,3	*
BCO-2 K + Zn	12,5 ppm	Înflorire	6152,3	108,67	490,6	
BCO -2 K	12,5 ppm	Înflorire	6003,7	106,04	342,0	
BCO-2 K + Zn	25 ppm	Înfrățire	5875,7	103,78	214,0	
BCO-2 K + Zn	50 ppm	Burduf	5783,7	102,15	122,0	
BCO-2 K + Zn	50 ppm	Înfrățire	5699,3	100,66	37,6	
BCO – 4 DMA	25 ppm	Înfrățire	5684,7	100,41	23,0	
BCO – 4 DMA	12,5 ppm	Înfrățire	5661,7	100,00	Martor	
BCO-2 K + Zn	25 ppm	Înflorire	5640,7	99,63	-21,0	
BCO-2 K + Zn	12,5 ppm	Înfrățire	5601,7	98,94	-60,0	
BCO -2 K	12,5 ppm	Burduf	5494,3	97,04	-167,4	
BCO -2 K	12,5 ppm	Înfrățire	5481,7	96,82	-180,0	
BCO -2 K	25 ppm	Burduf	5481,0	96,81	-180,7	
BCO -2 K	25 ppm	Înfrățire	5360,0	94,67	-301,7	
BCO-2 K + Zn	25 ppm	Burduf	5089,3	89,89	-572,4	
BCO – 4 DMA	25 ppm	Burduf	5043,3	89,08	-618,4	0
BCO-2 K + Zn	50 ppm	Înflorire	4890,0	86,37	-771,7	0
BCO -2 K	50 ppm	Înflorire	4733,7	83,61	-928,0	00
BCO – 4 DMA	50 ppm	Înfrățire	4687,0	82,78	-974,7	00
BCO -2 K	50 ppm	Burduf	4670,7	82,50	-991,0	00
BCO – 4 DMA	50 ppm	Burduf	4477,3	79,08	-1184,4	000

BCO – 4 DMA	12,5 ppm	Infiorire	4421,3	78,09	-1240,4	000
BCO – 4 DMA	50 ppm	Infiorire	4351,0	76,85	-1310,7	000
BCO – 4 DMA	25 ppm	Infiorire	4344,0	76,73	-1317,7	000
BCO -2 K	50 ppm	Infiorire	4022,7	71,05	-1639,0	000

DL 5 % - 529,4kg/ha ; DL 1%-709,4 kg/ha ; DL 0,1%- 936,3 kg/ha

Între primele zece interacțiuni, biostimulatorul BCO – 2 K se regăsește de două ori, biostimulatorul BCO – 4 DMA, de trei ori, iar biostimulatorul BCO – 2 K + acetat de Zn, de cinci ori. Concentrația de 25 ppm se găsește de trei ori, 12,5 ppm, de cinci ori și 50 ppm, de două ori. Aplicarea biostimulatorilor în biofaza de înflorire se găsește de trei ori, burduf, de trei ori și înfrățire de patru ori.

Având în vedere că în ultimile zece interacțiuni ca nivel al producției se află de șase ori biostimulatorul BCO – 4 DMA, de șapte ori concentrația de 50 ppm și de cinci ori biofaza de înflorire, considerăm că aceste elemente trebuiesc evitate în producție.

În anul agricol 2009-2010 producțiile obținute la grâu în această experiență au fost cu 381,9 – 252,2 kg/ha mai mari decât anul 2008-2009.

Tabelul 17

Producțiile obținute la grâu în anul 209-2010 cu ajutorul biostimulatorilor aplicați în diferite faze

Experiența nr.1			Experiența nr.2			Experiența nr.3		
Specific.	kg/ha	% față de Mt.	Specific.	kg/ha	% față de Mt.	Specific.	kg/ha	% față de Mt.
Efectul biostimulatorilor								
BCO-2 K	6824,2	111,23	BCO-4 K+ Zn	5148,1	111,6	BCO-2K+Zn	5658	113,2
BCO-4 K	6674,9	108,79	BCO – 2 K	4943,8	107,1	BCO – 2 K	5302	106,0
BCO-4DMA	6135,4	100,00	BCO –4 DMA	4612,2	100,0	BCO-4DMA	4998	100,0
Efectul concentrației biostimulatorilor								
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	6803	118,6	50 ppm	5230,3	110,0	12,5 ppm	5704	100,0
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	6748	117,6	12,5 ppm	4750,6	100,0	25 ppm	5443,7	95,4
N ₀ P ₀ K ₀	5738	100,0	25 ppm	4700,7	98,9	50 ppm	4812,8	84,3
Efectul epocii de aplicare a biostimulatorilor								
Infiorire	6695,9	103,59	Boema	5123,9	100,0	Burdof	5395,1	101,0
Burdof	6474,6	100,17	Flamura 85	4833,1	94,3	Infiorire	9341,6	100,0
Infiorire	6463,9	100,00	Crina	4747,2	92,6	Infiorire	5223,5	97,7

Analizând comparativ efectul biostimulatorilor concentrațiilor, biofazelor de aplicare și îngrășămintelor se poate constata că sunt diferențe vizibile între aplicarea biostimulatorilor extraradicular pe agrofond fertilizat și nefertilizat radicular.

Aplicarea biostimulatorului BCO – 4 K pe agrofond fertilizat a realizat o producție de 6135,4 kg/ha, iar pe teren nefertilizat producția a fost de 4612,2 kg/ha în experiența a doua și 4998 kg/ha în experiența a treia cu diferențe de 1523,2 kg/ha și respectiv 1137,4 kg/ha. Aplicarea biostimulatorului BCO – 4 K în experiența 1, fertilizată și aplicarea în experiența 2 nefertilizată a realizat o diferență de producție de 1731 kg/ha în favoarea primei experiențe.

Rezultatele obținute în experiențele 2 și 3, nefertilizate cu îngrășămintă prin sistemul radicular ne arată că sporurile de producție aduse de biostimulatori se situează între 7,1% și 11,6% cu biostimulatorii BCO-4K și BCO-4K + Acetat de Zn și 6,0- 13,2% cu biostimulatorii BCO-2K și BCO-2K + Acetat de Zn.

Din analiza acestor trei componente privind concentrația biostimulatorilor, putem aprecia concentrația de 12,5 ppm și 25 ppm în experiența a 3-a (BCO -2K+ Ac. Zn; BCO -2K; BCO-4DMA), iar în experiența a doua (BCO-4K+ Ac. Zn; BCO-4K; BCO-4DMA), concentrația de 50 ppm și 12,5 ppm.

Biofaza de aplicare a biostimulatorilor este la înflorire și burduf, când grâul se fertilizează radicular și burduf, înfrățire, când nu se fertilizează.

Tabelul 18

Cele mai favorabile interacțiuni

Nr. experienței	Factorii experimentați			Producția kg/ha	% față de Mt.	Dif. kg/ha	Semnific.
	A	B	C				
1	N ₁₂₀ P ₉₀ K ₉₀	BCO-4K	Înflorire	8518	163,96	3322,7	***
2	BCO-4K+ Zn.	50 ppm	Boema	6009	120,95	1040,7	***
3	BCO-2K	25 ppm	Înflorire	6474,7	114,36	813	*

Din analiza tabelului 18 rezultă că cei mai eficienți biostimulatori sunt BCO-4K, BCO-4K + Ac. Zn și BCO-2K, cele mai bune concentrații 50 ppm și 25 ppm, iar biofaza cea mai potrivită, înflorirea. Soiul Boema a realizat cea mai mare producție.

CONCLUZII

- Fertilizarea radiculară cu N₁₂₀P₉₀K₉₀ și aplicarea biostimulatorului BCO-4K la înflorire poate aduce un spor de producție de 3322,7 kg/ha.

- Pe teren nefertilizat, aplicarea biostimulatorului BCO -4K+ Ac.Zn, în concentrație de 50 ppm și la soiul Boema s-a obținut un spor de producție 1040,7 kg/ha.

- Tot pe teren nefertilizat, biostimulatorul BCO-2K, în concentrație de 25 ppm și aplicare la înflorire, a realizat un spor de producție de 813 kg/ha.

- Folosirea biostimulatorilor este eficientă atât pe teren nefertilizat, dar mai ales pe teren fertilizat, când sporurile de producție sunt mai ridicate.

- Concentrația de aplicare a biostimulatorilor trebuie stabilită pentru fiecare biostimulator în parte, ca și biofaza de aplicare.

BIBLIOGRAFIE

1. Finck, A., 1982 – Fertilizers and fertilization Verlag Chemie Weinheim.
2. Borlan Z. și colab. 1995 – Îngrășămintele simple și complexe foliare. Ed.Ceres., Buc.
3. Merlo, L., Nuzzo, V., 1987 – Nutrizione fogliare degli alberi di frutto. Rivista di frutti coltura edi ortofloricultura, XIX, 4.
4. Borlan Z., 1989 – Fertilizarea foliară de stimulare a culturilor. Producția vegetală. Cereale și plante tehnice, XL.
5. Borlan Z., 1988 – Îngrășămintele complexe foliare noi în producția vegetală. Cereale și plante tehnice, nr.10.
6. Toma Doina Liana și colab., 1995 – Influența vitaminelor asupra germinației semințelor de porumb. Lucrări științifice vol.38, Seria Agronomie, Universitatea Agronomică Iași.
7. Timuta Lidia, 1998 – Acțiunea unor substanțe cu nucleu purinic asupra diviziunii celulelor radiculare la Triticum aestivum L. Lucrări științifice, vol. 41, Seria Agronomie, Universitatea Agronomică Iași.
8. Toma Doina Liana și colab., 1994 – Efectul vitaminelor asupra germinației semințelor de fasole. Lucrări științifice, vol.37, seria Agronomie, Universitatea Agronomică Iași.
9. Toma Doina Liana, Axinte M., Robu T., și colab.,1997 – Efectul tratamentelor cu îngrășămantul foliar folifag și giberelina asupra unor procese fiziologice la fasole. Lucări științifice, vol.40, seria Agronomie, UȘAMV Iași.
10. Garcia R.L. Hanway J.J., 1976 – Foliar Fertilization of Soybean During the seed filling Period. Agronomy Journal, vol.68, nr.7

11. Mansaur F.A., si colab., 1994 – Effect of benzyladenine on growth pif ments and productivity of soybean plants. Egiptean Journal of Phsiological Science, 18, 2.
12. Wiebold W.J. si colab., 1981 – Reproductive Lenels and Patems for Eleven Determinate Soybean cultivars Agronomy Journal vol.73, nr.1, SUA.
13. Axinte M. și colab., 1998 – Posibilități de sporire a productivității soiei (*Glycine hispida* Maxim.), prin stimularea procesului de fructificare. Lucrări științifice, vol.41, Seria Agronomie, UȘAMV Iasi.
14. Rusu M., și colab., 1999 – Cercetări privind efectul aplicării la sol si pe cale foliară a unor nutrienți la grâu. Lucrări științifice, vol.42, Seria Agronomie, USAMV Iasi.
15. Abrudan Anca si colab., 1998 – Ingrășăminte complexe foliare cu efecte de protecție a mediului împotriva poluării chimice și de diminuare a efectelor negative ale stresării moderate prin seceta a culturilor agricole. Lucrări științifice, vol.41, Seria Agronomie, UȘAMV Iași.
16. Bireescu L. și colab., 1999 – Researches meant to stimulate the physiological processes of germination springing and plantlets growing. Lucrari stiintifice, vol.42, seria Agronomie, USAMV Iasi.
17. Soare Maria si colab., 1998 – Date privind mecanismul de actiune a ingrasamintelor complexe foliare de protectie a mediului si productiei vegetale.

EXPERIMENTE BIOLOGICE LA TOMATE

In etapa III s-au realizat studii biologice privind efectul compusilor biodegradabili si netoxici din clasa acizilor sulfonamido fenoxiacetici substituiti, conditionati ca saruri de potasiu si de dimetilamina, asupra dezvoltarii si productiei la plantele de tomate, compusi testati in cel de-al doilea an de observatie la acelasi tip de culturi.

S-a utilizat ca material biologic de cercetare soiul semitârziu autohton de tomate, Buzau 1600, cu o productie medie de 70 – 90 t fructe/ha, creat la Statiunea de Cercetari Legumicole Buzau in 1972.

In acest al doilea an s-au efectuat experimente privind puterea si facultatea germinativa, inradacinarea si dezvoltarea rasadurilor si productia la tomate in cultura de câmp.

I. Influenta compusilor asupra puterii si facultatii germinative la semintele de tomate

S-au aplicat tratamente cu doi stimulatori de crestere in doua diluții (20 ppm și 25 ppm); semințele au fost mentinute in solutiile compusilor timp de 3 și 6 ore, la temperatura camerei, apoi s-au facut observatii comparative asupra germinației in condiții controlate de lumina, temperatura și umiditate, comparativ cu martorul netratat, ale carui semințe sunt inmuiate cu apa distilata aceeași perioada de timp.

Germinatia s-a realizat pe strat de hârtie de filtru umezit zilnic cu apa fiarta și racita, cu câte 20 de seminte pentru fiecare varianta de tratare. Temperatura medie pe durata experimentelor de germinare a fost de 16,7⁰C, cu o medie de 9,5 ore de iluminare pe zi.

Solutiile de tratare au continut sarurile de potasiu și separat de dimetilamina ale stimulatorilor de crestere, comparativ cu variantele martor tratate cu apa distilata, cu sau fara adaos de soluție de acetat de zinc de concentratie 5 ppm.

Solutiile de tratare continand sarurile de potasiu ale stimulatorilor de crestere, (sarurile de potasiu ale acidului 4-clor, 2-sulfonamido-fenoxiacetic și acidului 2-clor, 4-sulfonamido-fenoxiacetic) sunt folosite atât singure cât și cu adaos solutie de acetat de zinc.

Variantele de tratare in cadrul acestui experiment au fost:

m _{3-H₂O} – martor apa 3 ore;	m _{3-Zn} – martor soluție acetat de zinc 5 ppm 3 ore;
m _{6-H₂O} – martor apa 6 ore;	m _{6-Zn} – martor soluție acetat de zinc 5 ppm 6 ore;

v ₃₋₁ – BCO-4 K 20 ppm 3 ore;	v ₃₋₂ – BCO-4 K 25 ppm 3 ore;
v ₃₋₃ – BCO-4 K 20 ppm + Zn 5 ppm 3 ore;	v ₃₋₄ – BCO-4 K 25 ppm + Zn 5 ppm 3 ore;
v ₃₋₅ – BCO-2 K 20 ppm 3 ore;	v ₃₋₆ – BCO-2 K 25 ppm 3 ore;
v ₃₋₇ – BCO-2 K 20 ppm + Zn 5 ppm 3 ore;	v ₃₋₈ – BCO-2 K 25 ppm + Zn 5 ppm 3 ore;

v₆₋₁ – BCO-4 K 20 ppm 6 ore; v₆₋₂ – BCO-4 K 25 ppm 6 ore;
v₆₋₃ – BCO-4 K 20 ppm + Zn 5 ppm 6 ore; v₆₋₄ – BCO-4 K 25 ppm + Zn 5 ppm 6 ore;
v₆₋₅ – BCO-2 K 20 ppm 6 ore; v₆₋₆ – BCO-2 K 25 ppm 6 ore;
v₆₋₇ – BCO-2 K 20 ppm + Zn 5 ppm 6 ore; v₆₋₈ – BCO-2 K 25 ppm + Zn 5 ppm 6 ore;

Masuratorile si observatiile au urmarit numarul de semințe germinate pe varianta, apariția si dimensiunile radicelelor, gemulelor și plantulelor cu doua frunze. S-au efectuat doua masuratori (I, II) la patru, respectiv șapte zile de la tratarea semintelor. Datele obtinute sunt cuprinse in tabelul 1:

Tabel 1

Studii experimentale privind germinatia semintelor de tomate la tratarea cu saruri de potasiu

Variante de tratare		m _{H₂O}	m _{Zn}	v ₁	v ₂	v ₃	v ₄	v ₅	v ₆	v ₇	v ₈
Timp de tratare		3 ore									
I	Nr. semințe germinate/20	11	16	20	18	19	18	16	18	15	18
	Lungime radicela (cm)	0.74	0.33	0.57	0.42	0.45	0.35	0.38	0.38	0.27	0.32
Timp de tratare		6 ore									
I	Nr. semințe germinate/20	15	17	19	16	18	15	17	16	16	17
	Lungime radicela (cm)	0.69	0.39	0.41	0.34	0.34	0.28	0.42	0.33	0.4	0.3
Timp de tratare		3 ore									
II	Nr. semințe germinate/20	15	18	20	20	20	19	18	19	16	18
	Nr. gemule sub 1 cm	6	8	7	8	10	8	1	3	8	7
	Nr. gemule 1 – 2 cm	4	6	5	6	1	5	4	5	4	5
	Nr. plantule cu 2 frunze	5	4	8	6	9	6	13	11	4	6
Timp de tratare		6 ore									
II	Nr. semințe germinate/20	16	17	20	18	20	18	18	16	17	17
	Nr. gemule sub 1 cm	3	2	5	4	7	5	8	5	7	6
	Nr. gemule 1 – 2 cm	4	3	6	4	6	4	3	6	7	5
	Nr. plantule cu 2 frunze	9	12	9	10	7	9	7	5	3	6

La variantele tratate timp de trei ore procentul de germinare a fost egal sau superior ambilor martori.

Pentru semintele tratate timp de sase ore, variantele au depasit sau cel putin egalat procentul de germinare al martorilor, dar germinatia a fost relativ buna si in cazul acestora.

In general, radicelele au fost mai lungi la martori comparativ cu variantele tratate, observand ca adaosul de acetat de zinc in solutia de tratare a redus lungimea radicelelor la majoritatea variantelor, inclusiv cele martor.

La ultima observatie, cinci variante au avut o germinatie de 100%: v₃₋₁ –BCO-4 K 20 ppm – 3 ore; v₃₋₂ –BCO-4 K 25 ppm – 3 ore; v₃₋₃ –BCO-4 K 20 ppm + Zn 5 ppm – 3 ore; v₆₋₁ –BCO-4 K 20 ppm– 6 ore si v₆₋₃ –BCO-4 K 20 ppm + Zn 5 ppm – 6 ore.

Referitor la stadiile de dezvoltare pentru plantulele de la fiecare varianta, s-a observat ca pentru variantele tratate timp de trei ore, cu exceptia unei variante, v₃₋₇, restul au dezvoltat plantule mai rapid decat ambii martori. In schimb, pentru semintele tratate timp de sase ore, doar trei variante au egalat martorii in special ca numar de plantule cu doua frunze, si anume: v₆₋₁ , v₆₋₂ , v₆₋₄ .

Pentru variantele tratate cu saruri de potasiu ale celor doi stimulatori de crestere, cu sau fara adaus de solutie de acetat de zinc, s-au evidentiat urmatoarele concluzii:

1. Semintele tratate timp de trei ore cu ambele concentratii ale stimulatorilor de crestere au avut un procent mai mare de germinare comparativ cu cele tratate timp de 6 ore, la majoritatea variantelor;

2. Stimulatorul BCO-4 conditionat ca sare de K, in ambele dilutii, a avut un efect superior asupra germinatiei, atât la variantele tratate trei ore cât si la cele tratate sase ore;

3. Efectul solutiei de acetat de zinc a constat in dezvoltarea treptata a plantulelor, fapt ce ar putea permite obtinerea unor serii consecutive de rasaduri.

Solutiile de tratare continand sarurile de dimetilamina ale celor doi stimulatori de crestere au fost studiate in aceleasi conditii sub aspectul efectului asupra germinatiei la semintele de tomate.

S-au notat urmatoarele variante de tratare:

m_{3-H_2O} – martor apa 3 ore;	m_{3-Zn} – martor soluție acetat de zinc 5 ppm 3 ore;
m_{6-H_2O} – martor apa 6 ore;	m_{6-Zn} – martor soluție acetat de zinc 5 ppm 6 ore;
v_{3-1} – BCO-4 DMA 20 ppm 3 ore;	v_{3-2} – BCO-4 DMA 25 ppm 3 ore;
v_{3-3} – BCO-4 DMA 20 ppm + Zn 5 ppm 3 ore;	v_{3-4} – BCO-4 DMA 25 ppm + Zn 5 ppm 3 ore;
v_{3-5} – BCO-2 DMA 20 ppm 3 ore;	v_{3-6} – BCO-2 DMA 25 ppm 3 ore;
v_{3-7} – BCO-2 DMA 20 ppm + Zn 5 ppm 3 ore;	v_{3-8} – BCO-2 DMA 25 ppm + Zn 5 ppm 3 ore;
v_{6-1} – BCO-4 DMA 20 ppm 6 ore;	v_{6-2} – BCO-4 DMA 25 ppm 6 ore;
v_{6-3} – BCO-4 DMA 20 ppm + Zn 5 ppm 6 ore;	v_{6-4} – BCO-4 DMA 25 ppm + Zn 5 ppm 6 ore;
v_{6-5} – BCO-2 DMA 20 ppm 6 ore;	v_{6-6} – BCO-2 DMA 25 ppm 6 ore;
v_{6-7} – BCO-2 DMA 20 ppm + Zn 5 ppm 6 ore;	v_{6-8} – BCO-2 DMA 25 ppm + Zn 5 ppm 6 ore;

Tabel 2

Studii experimentale privind germinatia semintelor de tomate la tratarea cu saruri de dimetilamina

Timp de tratare		3 ore									
Variante de tratare		m_{H_2O}	m_{Zn}	v_1	v_2	v_3	v_4	v_5	v_6	v_7	v_8
I	Nr. semințe germinate/20	11	16	17	17	18	17	16	16	16	17
	Lungime radicele (cm)	0.65	0.36	0.46	0.42	0.42	0.31	0.36	0.38	0.24	0.3
Timp de tratare		6 ore									
Variante de tratare		m_{H_2O}	m_{Zn}	v_1	v_2	v_3	v_4	v_5	v_6	v_7	v_8
I	Nr. semințe germinate/20	15	17	16	15	17	18	15	17	14	18
	Lungime radicele (cm)	0.73	0.4	0.37	0.28	0.32	0.25	0.4	0.38	0.39	0.35
Timp de tratare		3 ore									
Variante de tratare		m_{H_2O}	m_{Zn}	v_1	v_2	v_3	v_4	v_5	v_6	v_7	v_8
II	Nr. semințe germinate/20	15	18	20	18	20	19	19	18	17	19
	Nr. gemule sub 1 cm	6	8	8	7	6	6	3	5	4	4
	Nr. gemule 1 – 2 cm	4	6	3	3	7	5	5	4	8	7
	Nr. plantule cu 2 frunze	5	4	9	8	7	8	11	9	5	8
Timp de tratare		6 ore									
Variante de tratare		m_{H_2O}	m_{Zn}	v_1	v_2	v_3	v_4	v_5	v_6	v_7	v_8
II	Nr. semințe germinate/20	16	17	20	19	17	19	17	18	18	18
	Nr. gemule sub 1 cm	3	2	5	4	8	6	4	3	7	4
	Nr. gemule 1 – 2 cm	4	3	5	3	4	7	3	3	3	8
	Nr. plantule cu 2 frunze	9	12	10	12	5	6	10	12	8	6

Variantele cu seminte tratate timp de trei ore au avut toate valori superioare comparativ cu martorul tratat cu apa distilata, evidentiindu-se doua dintre acestea: v_{3-1} – BCO-4 DMA 20 ppm 3 ore si v_{3-3} – BCO-4 DMA 20 ppm+Zn 5 ppm 3 ore. Totusi, un procent ridicat de germinare, superior martorilor, s-a inregistrat si la variantele v_{3-4} , v_{3-5} si v_{3-8} .

Dintre variantele tratate timp de sase ore, doar v_{6-1} –BCO-2 DMA 20 ppm - 6 ore a avut un procent de germinare de 100%, dar toate celelalte variante au egalat sau depasit procentul martorilor.

Ca valori medii, semintele din variantele tratate au dezvoltat radicele mai scurte decât martorii, la ambii stimulatori folositi.

Pentru observatia finala, doar trei variante aveau 100% seminte germinate: v_{3-1} – BCO-4 DMA 20 ppm - 3 ore, v_{3-3} – BCO-4 DMA 20 ppm+Zn 5 ppm 3 ore si v_{6-1} –BCO-2 DMA 20 ppm - 6 ore.

S-a observat, pentru cele mai multe dintre variante, accelerarea ritmului de dezvoltare și creșterea numărului de plantule cu două frunze, la variantele fără adaos de sare de zinc, la ambii timpi de tratare.

Variantele tratate cu ambele dilutii ale stimulatoarelor de creștere combinate cu sare de zinc, timp de trei ore, au prezentat valori ușor superioare matorului m_{zn} pentru procentul de seminte germinate și pentru dezvoltarea plantulelor, iar la șase ore, valorile înregistrate la variantele tratate au fost comparabile cu cele ale matorului.

Pentru stimulatorii de creștere aplicați ca saruri de dimetilamina, cu sau fără adaos de zinc, s-au evidențiat următoarele concluzii:

1. Variantele cu seminte tratate timp de trei ore cu cele două dilutii ale stimulatoarelor de creștere au avut un procent de seminte germinate ușor mai mare decât variantele cu seminte tratate timp de șase ore;

2. Biostimulatorul BCO-4 DMA, în ambele dilutii, a avut un efect mai bun asupra facultății germinative atât la tratamentul timp de trei ore, cât și pentru variantele tratate șase ore;

3. Soluția de sare de zinc adăugată a condus la o dezvoltare graduală a plantulelor comparativ cu variantele tratate doar cu stimulatori de creștere, la care s-a înregistrat o creștere mai rapidă a plantulelor la aproape toate variantele;

II. Influența compusilor asupra înradăcinării și dezvoltării rasadurilor de tomate

S-a observat influența compusilor studiați care au fost aplicați pe semintele de tomate prin înmuiere în soluții de concentrație 20 și 25 ppm, asupra vitezei de înradăcinare și a dezvoltării rasadurilor. Variantele mator au fost tratate cu apă distilată și cu soluție de acetat de zinc de concentrație 5 ppm.

Experimentul s-a realizat în vase cu sol sterilizat și umezit după însămânțare cu apă fiartă și răcită. Variantele au fost așezate pe rânduri, câte 20 de seminte tratate și uscate anterior însămânțării pentru fiecare variantă.

S-au efectuat stropiri zilnice cu apă fiartă și răcită, pe durata observațiilor (30 de zile). S-a urmărit apariția gemulelor și plantulelor cu 2, 4 și 6 frunze.

Rezultatele obținute la cele patru date de observare (o dată la șapte zile) sunt prezentate în tabelul 3.

La început, după șapte zile de la însămânțare, variantele de tratare s-au prezentat astfel:

- variantele la care au apărut cele mai multe plante cu 2 frunze din seminte tratate trei ore, după șapte zile, au fost: v_{3-1} ; v_{3-10} ; v_{3-2} , v_{3-7} , v_{3-9} , v_{3-15} . S-au înregistrat în medie mai puține plante aparute pe rând decât la variantele cu seminte tratate șase ore cu același biostimulator. Singurul tratament cu 100% plante aparute și la 3 și la 6 ore a fost cel cu BCO 4 K – 20 ppm.

- în ceea ce privește talia plantelor în funcție de varianta de tratare, s-au obținut plante mai înalte la următoarele variante: v_{6-3} ; v_{6-8} , v_{6-12} ; v_{6-16} și matorul tratat cu soluție de acetat de zinc timp de 6 ore;

- variantele mator cu seminte tratate cu apă distilată au prezentat mai puține plante aparute pe rând, în special pentru varianta la trei ore, la care plantele au avut și talie mai mică. Variantele mator cu seminte tratate în soluție de acetat de zinc au condus la ambii timpi de tratare la un număr mare de plante pe rând (18, respectiv 19), cu talie mare;

- după patru săptămâni de dezvoltare a rasadurilor, variantele care au dat rezultate mai bune au fost următoarele, pentru fiecare dintre cei doi biostimulatori: **BCO 4 – 3 ore timp de tratare** - v_{3-1} - BCO 4 K – 20 ppm (20 plante cu 4 și 6 frunze/20 seminte, dar cu talie medie); v_{3-2} - BCO 4 K – 25 ppm (20 plante cu 4 și 6 frunze/20 seminte, dar cu talie mai mare); v_{3-7} - BCO 4 DMA – 25 ppm (19 plante cu 4 și 6 frunze/20 seminte, dar cu talie mai mare); **BCO 4 – 6 ore timp de tratare** - v_{6-1} - BCO 4 K – 20 ppm (20 plante cu 4 și 6 frunze/20 seminte, dar cu talie medie); v_{6-2} - BCO 4 K - 25 ppm (19 plante cu 6 frunze/20 seminte, dar cu talie mai mică) și v_{6-7} - BCO 4 DMA – 25 ppm (19 plante cu 4 și 6 frunze/20 seminte, dar cu talie mare); **BCO 2 – 3 ore timp de tratare** - v_{3-9} - BCO 2 K – 20 ppm (19 plante cu 4-6 frunze/20 seminte, dar cu talie mică), v_{3-10} - BCO 2 K – 25 ppm (20 plante cu 4 și 6 frunze/20 seminte, dar cu talie medie), v_{3-15} - BCO 2 DMA+Zn – 20 ppm (19 plante cu 4 și 6 frunze/20 seminte, cu talie medie) și v_{3-16} - BCO 2 DMA+Zn – 25 ppm (18 plante cu 4 și 6 frunze/20 seminte, cu talie medie); **BCO 2 – 6 ore timp de tratare** - v_{6-9} - BCO 2 K – 20 ppm (20 plante cu 4 și 6 frunze/20 seminte, cu talie medie), v_{6-10} - BCO

2 K – 25 ppm (19 plante cu 4 si 6 frunze/20 seminte, cu talie mai mica), v₆₋₁₃ - BCO 2 DMA – 20 ppm (19 plante cu 4 si 6 frunze/20 seminte, cu talie mare) si v₆₋₁₆ - BCO 2 DMA+Zn – 25 ppm (18 plante cu 4 si 6 frunze/20 seminte, cu talie mare).

- tot dupa patru saptamâni, martorii cu seminte tratate cu apa distilata au prezentat, la trei ore, doar 12 plante cu 4 frunze si talie foarte mica, iar la sase ore, 16 plante cu 4-6 frunze, cu talie mare; martorii cu seminte tratate cu solutie de acetat de zinc au prezentat, la trei ore, 187 plante cu 4-6 frunze cu talie mare si la sase ore, 19 plante cu 4 frunze cu talie la fel, mare.

In concluzie, se observa ca biostimulatorul BCO 4 conduce la o dezvoltare usor mai rapida a plantelor (stadiul de 5-6 frunze), in special la semintele tratate timp de sase ore, iar ca sare de dimetilamina, plantele sunt in medie mai inalte. Sarea de potasiu inregistreaza valori mai mari ale taliei plantelor doar la dilutia de 20 ppm; acelasi efect se remarca si la biostimulatorul BCO 2, desi numarul plantelor cu 5 si 6 frunze este mai mic, mai ales la variantele tratate sase ore. Si aici, sarea de dimetilamina conduce la plante in medie mai inalte, la fel si variantele tratate cu dilutia de 20 ppm.

Martorul tratat cu apa distilata se comporta mai bine la sase ore, desi numarul de plante este inferior majoritatii variantelor tratate, iar martorul tratat cu solutie de acetat de zinc se comporta mai bine doar la trei ore timp de tratare, la sase ore aparitia frunzelor este incetinita.

Influenta tratamentelor cu biostimulatori cu sau fara adaos de zinc asupra inradacinarii si dezvoltarii rasadurilor

Tabel 3

Nr. crt.	Varianta	7 zile								14 zile							
		3 ore				6 ore				3 ore				6 ore			
		2 fr.	4 fr.	5 fr.	Talie	2 fr.	4 fr.	5 fr.	Talie	2 fr.	4 fr.	5 fr.	Talie	2 fr.	4 fr.	5 fr.	Talie
1	BCO 4 K – 20 ppm	20	-	-	2.75	20	-	-	3.25	-	20	-	5.5	-	20	-	5.5
2	BCO 4 K – 25 ppm	19	-	-	3.5	20	-	-	4	1	19	-	6	1	19	-	5.25
3	BCO 4 K+Zn –20 ppm	16	-	-	4	15	-	-	4.5	-	16	-	6.5	-	15	-	6.5
4	BCO 4 K+Zn –25 ppm	14	-	-	4	18	-	-	3.25	2	12	-	6.25	-	18	-	5.75
5	BCO 4 DMA – 20 ppm	18	-	-	3	18	-	-	3.33	1	17	-	5	-	18	-	6
6	BCO 4 DMA – 25 ppm	17	-	-	3.67	18	-	-	3.75	1	16	-	4.75	1	17	-	6.5
7	BCO 4 DMA+Zn –20 ppm	19	-	-	4.25	19	-	-	4	-	19	-	6.25	-	19	-	7
8	BCO 4 DMA+Zn –25 ppm	16	-	-	4.33	17	-	-	4.5	-	16	-	7	1	16	-	7
9	BCO 2 K – 20 ppm	19	-	-	3.5	20	-	-	3.75	-	19	-	6	2	18	-	5
10	BCO 2 K – 25 ppm	20	-	-	4	19	-	-	3.67	-	20	-	6.5	3	16	-	4.75
11	BCO 2 K+Zn –20 ppm	17	-	-	3.75	12	-	-	2.5	1	17	-	5.75	7	5	-	3.25
12	BCO 2 K+Zn –25 ppm	18	-	-	4.33	17	-	-	4.5	1	17	-	6	-	17	-	7.5
13	BCO 2 DMA – 20 ppm	17	-	-	3.25	19	-	-	3.25	1	16	-	4.75	-	19	-	6
14	BCO 2 DMA – 25 ppm	16	-	-	3.5	15	-	-	2.5	1	16	-	6.25	4	12	-	4.5
15	BCO 2 DMA+Zn –20 ppm	19	-	-	4	17	-	-	3	-	19	-	6	-	17	-	5
16	BCO 2 DMA+Zn –25 ppm	18	-	-	3.75	18	-	-	4.5	-	18	-	5.67	-	18	-	6.5
17	Martor apa	6	-	-	2.25	16	-	-	4.25	8	4	-	3.33	-	16	-	5.75
18	Martor sare de zinc	18	-	-	3.75	19	-	-	4.5	-	18	-	6.5	-	19	-	6.5

Nr. crt.	Varianta	21 zile								28 zile							
		3 ore				6 ore				3 ore				6 ore			
		2 fr.	4 fr.	5 fr.	Talie	2 fr.	4 fr.	5 fr.	Talie	2 fr.	4 fr.	5-6 fr.	Talie	2 fr.	4 fr.	5-6 fr.	Talie
1	BCO 4 K – 20 ppm	-	16	4	8	-	17	3	8.75	-	3	17	11.25	-	5	15	12.5
2	BCO 4 K – 25 ppm	-	18	2	9.25	-	18	1	7.5	-	5	15	13	-	3	16	11
3	BCO 4 K+Zn –20 ppm	-	15	1	10	-	15	-	8.67	-	3	13	15.33	-	-	15	13.25
4	BCO 4 K+Zn –25 ppm	-	14	-	9	-	18	-	8	-	6	8	12.25	-	12	6	10.5
5	BCO 4 DMA – 20 ppm	-	18	-	7.67	-	18	-	8.25	-	10	8	11.67	-	2	16	12
6	BCO 4 DMA – 25 ppm	-	17	-	7.25	-	18	-	9.5	-	15	2	10.75	-	3	15	13.5
7	BCO 4 DMA+Zn –20 ppm	-	17	2	8.5	-	18	1	10.33	-	5	14	13.5	-	2	17	14.25
8	BCO 4 DMA+Zn –25 ppm	-	15	1	9.33	-	17	-	9.75	-	3	13	14.33	-	7	10	13.5
9	BCO 2 K – 20 ppm	-	18	1	8.67	-	19	1	8	-	2	17	11	-	1	19	12.75
10	BCO 2 K – 25 ppm	-	18	2	9	-	18	1	7.25	-	4	16	13.25	-	3	16	11.5
11	BCO 2 K+Zn –20 ppm	-	18	-	7.67	-	12	-	6.33	-	3	15	10.5	-	9	3	9.75
12	BCO 2 K+Zn –25 ppm	-	18	-	8.25	-	17	-	8.5	-	10	8	11	-	3	14	13
13	BCO 2 DMA – 20 ppm	-	17	-	7.33	-	17	2	9.25	-	8	9	9.67	-	1	18	14.25
14	BCO 2 DMA – 25 ppm	-	17	-	8.75	-	16	-	7	-	9	8	10.75	-	4	12	12.33
15	BCO 2 DMA+Zn –20 ppm	-	18	1	9	-	17	-	7.75	-	5	14	13	-	2	15	11.25
16	BCO 2 DMA+Zn –25 ppm	-	18	-	8.67	-	17	1	9	-	2	16	12.5	-	2	16	13.67
17	Martor apa	7	5	-	4.25	-	16	-	8.5	-	12	-	7	-	3	13	13.5
18	Martor sare de zinc	-	17	1	9.5	-	19	-	9.33	-	10	7	13.5	-	12	7	14.5

Pentru plantele de tomate cultivate in câmp s-au efectuat trei tratamente si s-a urmarit dezvoltarea generala a plantelor. Variantele au fost asezate randomizat, in câte trei repetitii pentru fiecare varianta de tratare, cu câte cinci plante la fiecare repetitie. Pentru a nu exista interferente intre diferitele variante de tratare, acestea au fost separate cu câte un rând de plante tampon, care nu au fost tratate sau masurate.

Variantele considerate au fost urmatoarele :

m_{apa}	Martor apa distilata	V₁	BCO 4 K – 20 ppm	V₉	BCO 2 K – 20 ppm
m_{Zn}	Martor sare de zinc	V₂	BCO 4 K – 25 ppm	V₁₀	BCO 2 K – 25 ppm
		V₂	BCO 4 K+Zn –20 ppm	V₁₁	BCO 2 K+Zn –20 ppm
		V₄	BCO 4 K+Zn –25 ppm	V₁₂	BCO 2 K+Zn –25 ppm
		V₅	BCO 4 DMA – 20 ppm	V₁₃	BCO 2 DMA – 20 ppm
		V₆	BCO 4 DMA – 25 ppm	V₁₄	BCO 2 DMA – 25 ppm
		V₇	BCO 4 DMA+Zn –20 ppm	V₁₅	BCO 2 DMA+Zn –20 ppm
		V₈	BCO 4 DMA+Zn –25 ppm	V₁₆	BCO 2 DMA+Zn –25 ppm

Se observa un numar mai mare de flori, respectiv de fructe legate la cele patru etaje permise la fiecare planta la variantele tratate cu BCO 4, cu un numar usor mai mare la variantele care au avut si adaos de sare de zinc. Cu toate ca cel de-al doilea biostimulator a obtinut valori mai mici in ceea ce priveste numarul de fructe legate, ele au fost oricum superioare martorilor considerati.

Din cele doua dilutii folosite, cea de 20 ppm a dat rezultate mai bune, atât la variantele fara adaos de sare de zinc comparativ cu variantele tratate cu dilutia de 25 ppm cât si comparativ cu martorii. Biostimulatorul BCO 2 a dus la plante mai uniforme in ceea ce priveste talia si chiar usor mai inalte la cele mai multe dintre variante.

Observațiile privind producția s-au facut separat pentru primele doua etaje (tabel 4), apoi pentru etajele 3 și 4 (tabel 5), masurându-se producția medie pe planta (g) și producția medie in tone/hectar. In final s-au facut observatii asupra productiei totale a celor patru etaje pentru fiecare varianta (tabel 6).

La etajele I și II s-au obținut din nou cele mai mari diferențe între martor și variantele tratate.

Tabel 5

Producția la tomate in câmp la recoltarea etajelor I și II

Var.	Producție medie (g/planta)				Producție medie (t/ha)			
	R ₁	R ₂	R ₃	Medie	R ₁	R ₂	R ₃	Medie
m_{apa}	695	673	755	707.67	27.8	26.92	30.2	28.307
m_{Zn}	880	915	902	899	35.2	36.6	36.08	35.96
V₁	1342	1468	1397	1402.33	53.68	58.72	55.88	56.093
V₂	1110	1232	995	1112.33	44.4	49.28	39.8	44.493
V₂	1488	1546	1523	1519	59.52	61.84	60.92	60.76
V₄	1315	1348	1422	1361.67	52.6	53.92	56.88	54.467

V ₅	1065	1126	989	1060	42.6	45.04	39.56	42.4
V ₆	954	1105	1196	1085	38.16	44.2	47.84	43.4
V ₇ *	832	975	386	731	33.28	39	15.44	29.24
V ₈	973	1062	1170	1068.33	38.92	42.48	46.8	42.733
V ₉	965	1007	882	951.33	38.6	40.28	35.28	38.053
V ₁₀ *	934	553	998	828.33	37.36	22.12	39.92	33.133
V ₁₁	1072	1143	1176	1130.33	42.88	45.72	47.04	45.213
V ₁₂	961	1108	926	998.33	38.44	44.32	37.04	39.933
V ₁₃ *	425	894	1083	800.67	17	35.76	43.32	32.027
V ₁₄	854	878	959	897	34.16	35.12	38.36	35.88
V ₁₅	988	1012	915	971.67	39.52	40.48	36.6	38.867
V ₁₆	1044	932	958	978	41.76	37.28	38.32	39.12

Datele privitoare la producția etajelor III și IV au înregistrat diferențe mai mici față de martori, dar toate variantele tratate au avut rezultate superioare acestora. Unele plante din trei repetiții la diferite variante de tratare au suferit de viroza, nu s-au dezvoltat corespunzător și în consecință, producțiile la toate cele patru etaje s-au diminuat la repetițiile respective.

Tabel 6

Producția la tomate în câmp la recoltarea etajelor III și IV

Var.	Producție medie (g/planta)				Producție medie (t/ha)			
	R ₁	R ₂	R ₃	Medie	R ₁	R ₂	R ₃	Medie
m _{apa}	376	403	380	386.33	15.04	16.12	15.2	15.453
m _{Zn}	469	614	488	523.67	18.76	24.56	19.52	20.947
V ₁	728	814	653	731.67	29.12	32.56	26.12	29.267
V ₂	596	477	725	599.33	23.84	19.08	29	23.973
V ₃	416	638	594	549.33	16.64	25.52	23.76	21.973
V ₄	617	773	597	662.33	24.68	30.92	23.88	26.493
V ₅	481	442	534	485.67	19.24	17.68	21.36	19.427
V ₆	374	446	425	415	14.96	17.84	17	16.6
V ₇ *	439	527	206	390.67	17.56	21.08	8.24	15.627
V ₈	503	614	596	571	20.12	24.56	23.84	22.84
V ₉	628	813	754	731.67	25.12	32.52	30.16	29.267
V ₁₀ *	525	211	642	459.33	21	8.44	25.68	18.373
V ₁₁	622	788	592	667.33	24.88	31.52	23.68	26.693
V ₁₂	563	629	604	598.67	22.52	25.16	24.16	23.947
V ₁₃ *	294	618	655	522.33	11.76	24.72	26.2	20.893
V ₁₄	443	572	486	500.33	17.72	22.88	19.44	20.013
V ₁₅	549	568	442	519.67	21.96	22.72	17.68	20.787
V ₁₆	385	348	423	385.33	15.4	13.92	16.92	20.787

Producția medie pe planta a înregistrat la fel valori mai mari la variantele tratate, diferențiat pentru cei doi biostimulatori: BCO-4 a dat din nou rezultate mai bune, la ambele diluții, cu sau fără adaos de sare de zinc, față de BCO-2, dar și ultimul biostimulator a condus la rezultate superioare martorilor. Totodată, sarea de potasiu a dus la obținerea unor producții mai mari decât sarea de dimetilamina, atât la primele cât și la ultimele două etaje.

S-a calculat în final și producția totală la tomate în câmp în tone/ha, ca medie a celor trei repetiții, considerând o suprafață cultivată cu 40 000 plante/ha.

Tabel 7

Producția totală la tomate în câmp în funcție de tratamentul aplicat - tone/ha
(la 40 000 plante / ha)

Varianta	Producția totală (t/ha)			
	R ₁	R ₂	R ₃	Medie
m _{apa}	42.84	43.04	45.4	43.76
m _{Zn}	53.96	61.16	55.6	56.907
V ₅	82.8	91.28	82	85.36
V ₄	68.24	68.36	68.8	68.466
V ₂	76.16	87.36	84.68	82.733
V ₄	77.28	84.84	80.76	80.96
V ₅	61.84	62.72	60.92	61.827
V ₆	53.12	62.04	64.84	60
V ₇	50.84	60.08	23.68	44.867
V ₈	59.04	67.04	70.64	65.573
V ₃	63.72	72.8	65.44	67.32
V ₂	58.36	30.56	65.6	51.506
V ₁₁	67.76	77.24	70.72	71.906
V ₁₂	60.96	69.48	61.2	63.88
V ₁₃	28.76	60.48	69.52	52.92
V ₁₄	51.88	58	57.8	55.893
V ₁₅	61.48	63.2	54.28	59.654
V ₁₆	57.16	51.2	55.24	59.907

Se observa creșteri semnificative ale producției la variantele tratate față de martori dar variantele nu au depășit capacitatea de producție a soiului, de 70 – 90 t/ha. Condițiile de mediu înregistrate în câmpul experimental nu au fost favorabile, perioadelor de secetă prelungită li s-au adăugat ulterior câteva zile cu ploi extrem de abundente cantitativ. Fructele au prezentat partea inferioară cicatrizată, iar la multe dintre ele, această zonă a putrezit.

Totusi, chiar și în aceste condiții, variantele tratate au depășit producția martorului stropit cu apă distilată și cu excepția a patru variante, și pe cea a martorului tratat cu soluție de acetat de zinc.

Influența diferiților factori considerați s-a apreciat prin calcul statistic, utilizând metoda blocurilor randomizate cu diferență limită. S-au obținut următoarele rezultate:

Tabel 8

**Influența tratamentului aplicat asupra producției totale la tomate în cultura de câmp
(40 000 plante/ha)**

Denumirea variantei	Productia	%fața de martor	Diferențe	Semnificație
BCO 4 K – 20 ppm	85.36	194.98	41.6	xxx
BCO 4 K+Zn –20 ppm	82.73	188.81	38.9	xxx
BCO 4 K+Zn –25 ppm	80.96	184.93	37.2	xxx
BCO 2 K+Zn –20 ppm	71.9	164.16	28.1	xxx
BCO 4 K – 25 ppm	68.46	156.39	24.7	xx
BCO 2 K – 20 ppm	67.3	153.65	23.5	xx
BCO 4 DMA+Zn –25 ppm	65.57	149.77	21.8	xx

BCO 2 K+Zn –25 ppm	63.88	145.89	20.1	xx
BCO 4 DMA – 20 ppm	61.83	141.10	18.0	x
BCO 4 DMA – 25 ppm	60.0	136.99	16.2	x
BCO 2 DMA+Zn –20 ppm	59.65	136.30	15.9	x
Martor acetat zinc 5 ppm	56.91	129.91	13.1	
BCO 2 DMA – 25 ppm	55.89	127.63	12.1	
BCO 2 DMA+Zn –25 ppm	54.5	124.43	10.7	
BCO 2 DMA – 20 ppm	52.92	120.78	9.1	
BCO 2 K – 25 ppm	51.5	117.58	7.7	
BCO 4 DMA+Zn –20 ppm	44.87	102.51	1.1	
Martor apa	43.76	100.00	0.0	Martor
DL 5% : 14.5 t/ha DL 1% : 19.5 t/ha DL 0.1% : 25.7 t/ha				

CONCLUZII experimente biologice tomate

A. In cazul germinarii semintelor de tomate tratate cu biostimulatori aplicati ca saruri de potasiu, cu sau fara adaus de zinc, s-au evidentiat urmatoarele concluzii:

1. Semintele tratate timp de trei ore cu ambele concentratii ale stimulatorilor de crestere au avut un procent mai mare de germinare comparativ cu cele tratate timp de 6 ore, la majoritatea variantelor;
2. Stimulatorul BCO-4 conditionat ca sare de K, in ambele dilutii, a avut un efect superior asupra germinatiei, atât la variantele tratate trei ore cât si la cele tratate sase ore;
3. Efectul solutiei de acetat de zinc a constat in dezvoltarea treptata a plantulelor, fapt ce ar putea permite obtinerea unor serii consecutive de rasaduri.

B. In cazul germinarii semintelor de tomate tratate cu biostimulatori aplicati ca saruri de dimetilamina, cu sau fara adaus de zinc, s-au evidentiat urmatoarele concluzii:

1. Variantele cu seminte tratate timp de trei ore cu cele doua dilutii ale stimulatorilor de crestere au avut un procent de seminte germinate usor mai mare decât variantele cu seminte tratate timp de sase ore;
2. Biostimulatorul BCO-4 DMA, in ambele dilutii, a avut un efect mai bun asupra facultatii germinative atat la tratamentul timp de trei ore, cat si pentru variantele tratate sase ore;
3. Solutia de sare de zinc adaugata a condus la o dezvoltare graduala a plantulelor comparativ cu variantele tratate doar cu stimulatori de crestere, la care s-a inregistrat o crestere mai rapida a plantulelor la aproape toate variantele;

C. Observatiile privind inradacinarea si dezvoltarea rasadurilor arata ca biostimulatorul BCO 4 conduce la o dezvoltare usor mai rapida a plantelor (stadiul de 5-6 frunze), in special la semintele tratate timp de sase ore, iar ca sare de dimetilamina, plantele sunt in medie mai inalte. Sarea de potasiu inregistreaza valori mai mari ale taliei plantelor doar la dilutia de 20 ppm; acelasi efect se remarca si la biostimulatorul BCO 2, desi numarul plantelor cu 5 si 6 frunze este mai mic, mai ales la variantele tratate sase ore. Si aici, sarea de dimetilamina conduce la plante in medie mai inalte, la fel si variantele tratate cu dilutia de 20 ppm.

Martorul tratat cu apa distilata se comporta mai bine la sase ore, desi numarul de plante este inferior majoritatii variantelor tratate, iar martorul tratat cu solutie de acetat de zinc se comporta mai bine doar la trei ore timp de tratare, la sase ore aparitia frunzelor este incetinita.

D. Biostimulatorii aplicati la tomate in cultura de câmp au condus la productii mai mari comparativ cu martorul stropit cu apa distilata dar si comparativ cu varianta tratata cu solutie de acetat de zinc 5 ppm;

1. Dintre cei doi biostimulatori considerat, cele mai bune rezultate s-au obținut folosind BCO-4, urmat de BCO-2;

2. Dilutia care a dus la productii mai mari a fost 20 ppm, urmata de 25 ppm ;

3. Adaosul de sare de zinc solutie 5 ppm a sporit productiile la cele mai multe dintre variantele la care a insotit tratamentul cu biostimulator, iar martorul tratat doar cu aceasta solutie a avut productii mai mari decât cinci variante de tratare si decât martorul stropit cu apa distilata;

4. Combinatiile de tratare la care s-au obtinut rezultate foarte semnificative la calculul statistic au fost: BCO 4 sare K 20 ppm BCO 4 sare K + acetat Zn 20 ppm; BCO 4 sare K + acetat Zn 25 ppm si BCO 2 sare K + acetat Zn 20 ppm.

BIBLIOGRAFIE

1. Birescu L. si colab. – Researches regarding the stimulation of the physiological processes of germination, springing and plantlets growing. Lucrari stiintifice, vol.42, seria Agronomie, USAMV Iasi, 1999

2. Finck, A.– Fertilizers and fertilization Varlag Chemie Weinheim, 1982.

3. Garcia R.L. Hanway J.J. – Foliar Fertilization of Soybean During the seed filling Period. Agronomy Journal, vol.68, nr.7, 1976

4. Holloy L.K., Kookana S.R., Smith G.J. - Australian Journal of Experimental Agriculture, 46(10), 1323, 2006

5. Mansaur F.A., si colab.– Effect of benzyladenine on growth pigments and productivity of soybean plants. Egiptean Journal of Phsiological Science, 18, 2, 1994.

6. Oniscu C, Adina Dumitrascu, Anca Mocanu - Romanian Biotechnological Letters, 10(3), 2217, 2005

7. Oniscu C., Cilianu St., Dobrescu D. - Brevet RO 110060/1997.

8. Oniscu C., Bancila V. – Brevet RO nr. 109 348, 1995

9. Trofin Alina – Cercetari privind obținerea și experimentarea de noi biostimulatori, Universitatea Tehnica "Gh. Asachi" Iași. , 2003

CONCLUZII GENERALE ETAPA III

P1

1. Cercetările realizate in cadrul etapei a III-a s-au materializat prin sinteza si caracterizarea seriei de noi acizi din grupa 1,3,5-triazin-2-clor-4,6-diamidosulfonil-fenoxiacetici precum si a seriei de 1-amidosulfonil-clor-fenoxiacetil-3,5-dimetilpirazol.

2. S-au elaborat metode specifice de sinteză a acestor serii de derivati biologic activi.

3. S-au stabilit metodele de obtinere a sărurilor acizilor amidosulfonil-clor-fenoxiacetici sub formă de solutii apoase si sub formă cristalină.

4. Prin cercetările realizate (care reprezintă sarcinile etapei a III-a) si redactarea raportului de activitate au fost îndeplinite integral toate sarcinile prevăzute în planul de realizare al proiectului.

P2

1. Au fost efectuate studii experimentale de sinteza in vederea obtinerii de noi acizi sulfonamidati ai derivatilor fenoxiacetici. Intermediarii si compusii noi sintetizati au fost caracterizati din punct de vedere structural prin: analiza elementala, spectroscopie IR si RMN.

2. Doi dintre compuşii sintetizați și anume: Acidul 2-cloro-4-amidosulfonil fenoxiacetic (A-2A) (obținut prin sinteza chimică de către P1-Universitatea Tehnică "Gh. Asachi" Iași) și Acidul 2-cloro-4-(piperidino)-sulfonil-fenoxi acetic (A-1D) (obținut prin sinteza chimică de către P2- Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Chimico-Farmaceutică București) au fost caracterizați din punct de vedere toxicologic.

3. În conformitate cu Ghidul OECD nr420, probele testate: A-1AD se încadrează în Categoria 4 - SGA (Sistemul Global Armonizat de clasificare a substanțelor chimice care cauzează toxicitate acută), echivalent „Nociv” în Clasificare UE și A-2A se încadrează în Categoria 5 -Neclasificat – SGA, echivalent „Neclasificat” în Clasificare UE;

CO –studii biologice greu

1. În condițiile ecologice ale anului agricol 2009-2010 fertilizarea cu $N_{60}P_{60}K_{60}$ a determinat cea mai mare producție de grâu, de 6803 kg/ha, cu un spor foarte semnificativ, de 1065 kg/ha față de varianta martor ;

2. Biostimulatorul BCO – 2 K a realizat un spor de 688,8 kg/ha față de biostimulatorul martor – BCO – 4 DMA și de 149,3 kg/ha față de biostimulatorul BCO – 4 K ;

3. Față de aplicarea biostimulatorilor în biofaza de înfrățire, la aplicarea în biofaza de înflorire s-a realizat un spor de producție de 232 kg/ha ;

4. Interacțiunea dintre fertilizarea cu $N_{60}P_{60}K_{60}$ x BCO – 2 K a determinat o producție de 7799,7 kg/ha, cu 2132 kg/ha mai mare decât în varianta martor, $N_0P_0K_0$ x BCO 4 DMA, diferență foarte semnificativă ;

5. Interacțiunea dintre cei trei factori a determinat cea mai mare producție de cariopse de 8518 kg/ha în varianta $N_{120}P_{90}K_{90}$ x BCO – 4 K x înflorire, cu o diferență de 3322,7 kg/ha, foarte semnificativă față de varianta martor.

6. Interacțiunea dintre biostimulatori și concentrațiile lor s-a materializat prin datele din tabelul 11. Pe primul loc s-a situat interacțiunea BCO 4 K + Acetat de Zn x 50 ppm, cu 5618,3 kg/ha, diferența de 30,13 % față de varianta martor fiind foarte semnificativă.

7. Pe locul al doilea s-a situat biostimulatorul BCO- 4 K în concentrație de 12,5 ppm, cu o producție de 5217,2 kg/ha și o diferență foarte semnificativă față de martor, de 20,84 %.

8. Rezultă din cele prezentate influența pozitivă a interacțiunilor dintre biostimulatorul BCO – 4 K + Ac. Zn, concentrația de 50 ppm și soiul Boema

9. Față de anul 2008-2009, producțiile obținute în anul agricol 2009 – 2010 au fost mai mari cu 991 kg/ha – 1244,9 kg/ha.

10. Cel mai mare număr de spice pe m^2 s-a înregistrat folosind biostimulatorul BCO-2 K + Acetat de Zn, cu 489,9 spice, cu 20,8 spice/ m^2 mai mult decât în varianta martor (BCO – 4 DMA), diferența fiind distinct semnificativă.

11. Concentrația cea mai bună a biostimulatorilor a fost de 25 ppm, cu 487,1 spice/ m^2 , iar biofaza cea mai pozitivă, la înflorire cu 486,4 spice/ m^2 , distinct semnificativă față de varianta martor (biofaza înfrățire).

12. Dintre biofaze, cea de înflorire, se regăsește în cinci variante, de burduf, în trei variante și de înfrățire, în două variante.

13. Concentrația biostimulatorilor de 12,5 ppm se regăsește în cinci variante, concentrația de 25 ppm în trei variante și 50 ppm, în două variante.

14. Interacțiunea dintre cei trei factori cercetați (tabelul 14) evidențiază biostimulatorul BCO- 2 K, în concentrație de 12,5 ppm, aplicat în biofaza de înflorire, cu 506,7 spice/ m^2 , cu o diferență foarte semnificativă de 50,7 spice/ m^2 .

15. În primele zece variante cu diferențe foarte semnificative față de varianta martor, biostimulatorul BCO – 2 K se găsește de cinci ori, biostimulatorul BCO - 2 K + acetat de Zn, de trei ori și biostimulatorul BCO – 4 DMA, de două ori.

16. Fertilizarea radiculară cu $N_{120}P_{90}K_{90}$ și aplicarea biostimulatorului BCO-4K la înflorire poate aduce un spor de producție de 3322,7 kg/ha.

17. Pe teren nefertilizat, aplicarea biostimulatorului BCO -4K+ Ac.Zn, în concentrație de 50 ppm și la soiul Boema s-a obținut un spor de producție 1040,7 kg/ha.

18. Tot pe teren nefertilizat, biostimulatorul BCO-2K, în concentrație de 25 ppm și aplicare la înflorire, a realizat un spor de producție de 813 kg/ha.

19. Folosirea biostimulatorilor este eficientă atât pe teren nefertilizat, dar mai ales pe teren fertilizat, când sporurile de producție sunt mai ridicate.

CO –studii biologice tomate

1. Semintele tratate timp de trei ore cu ambele concentratii ale stimulatorilor de crestere au avut un procent mai mare de germinare comparativ cu cele tratate timp de 6 ore, la majoritatea variantelor;

2. Stimulatorul BCO-4 conditionat ca sare de K, in ambele dilutii, a avut un efect superior asupra germinatiei, atât la variantele tratate trei ore cât si la cele tratate sase ore;

3. Efectul solutiei de acetat de zinc a constat in dezvoltarea treptata a plantulelor, fapt ce ar putea permite obtinerea unor serii consecutive de rasaduri.

4. Variantele cu seminte tratate timp de trei ore cu cele doua dilutii ale stimulatorilor de crestere au avut un procent de seminte germinate usor mai mare decât variantele cu seminte tratate timp de sase ore;

5. Biostimulatorul BCO-4 DMA, in ambele dilutii, a avut un efect mai bun asupra facultatii germinative atat la tratamentul timp de trei ore, cat si pentru variantele tratate sase ore;

6. Solutia de sare de zinc adaugata a condus la o dezvoltare graduala a plantulelor comparativ cu variantele tratate doar cu stimulatori de crestere, la care s-a inregistrat o crestere mai rapida a plantulelor la aproape toate variantele;

7. Biostimulatorul BCO 4 conduce la o dezvoltare usor mai rapida a plantelor (stadiul de 5-6 frunze), in special la semintele tratate timp de sase ore, iar ca sare de dimetilamina, plantele sunt in medie mai inalte.

8. Sarea de potasiu inregistreaza valori mai mari ale taliei plantelor doar la dilutia de 20 ppm; acelasi efect se remarca si la biostimulatorul BCO 2, desi numarul plantelor cu 5 si 6 frunze este mai mic

9. Dintre cei doi biostimulatori considerat, cele mai bune rezultate s-au obținut folosind BCO-4, urmat de BCO-2;

10. Dilutia care a dus la productii mai mari a fost 20 ppm, urmata de 25 ppm ;

11. Adaosul de sare de zinc solutie 5 ppm a sporit productiile la cele mai multe dintre variantele la care a insotit tratamentul cu biostimulator, iar martorul tratat doar cu aceasta solutie a avut productii mai mari decât cinci variante de tratare si decât martorul stropit cu apa distilata;

12. Combinatiile de tratare la care s-au obtinut rezultate foarte semnificative la calculul statistic au fost: BCO 4 sare K 20 ppm BCO 4 sare K + acetat Zn 20 ppm; BCO 4 sare K + acetat Zn 25 ppm si BCO 2 sare K + acetat Zn 20 ppm.

BIBLIOGRAFIE ETAPA III

1. Birescu L. si colab. – Researches regarding the stimulation of the physiological processes of germination, springing and plantlets growing. Lucrari stiintifice, vol.42, seria Agronomie, USAMV Iasi, 1999
2. Curteanu Silvia, Oniscu C, Dumitrascu Adina, Rev. Chim. (Bucuresti), **58**, no.11, 2007.p.1085
3. Finck, A.– Fertilizers and fertilization Verlag Chemie Weinheim, 1982.
4. Fuji K., Tanaka T., Fukuda Y., Jap.Pat. 0728 5942/19994.
5. Garcia R.L. Hanway J.J. – Foliar Fertilization of Soybean During the seed filling Period. Agronomy Journal, vol.68, nr.7, 1976
6. H.R. Girisha, J.N. Narendra Sharath Chandra, etc. , Eur.J.Med. Chem.; **44**, 2009, p. 4057-4062,
7. H.Sanielevici, F.Urseanu,;Sinteze de intermediari aromatici, Ed.Tehnica, Bucuresti, 1983,pag.93;
8. Holloy L.K., Kookana S.R., Smith G.J. - Australian Journal of Experimental Agriculture, 46(10), 1323, 2006
9. Mansaur F.A., si colab.– Effect of benzyladenine on growth pigments and productivity of soybean plants. Egiptean Journal of Phsiological Science, 18, 2, 1994.
10. Mocanu A, Curteanu S., Cernetescu C, Dumitrascu A., Oniscu C.-Roumanian Biotechnological Letters,**12**, no.4, 2007, p.3303.
11. OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, Section 4: Health Effects, OECD/OCDE – Test No. 420 Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure.
12. Oniscu C, Adina Dumitrascu, Anca Mocanu – Rom. Biotechn. Letters, 10(3), 2217, 2005
13. Oniscu C., Bancila V. – Brevet RO nr. 109 348, 1995
14. Oniscu C., Cilianu St., Dobrescu D. - Brevet RO 110060/1997.
15. Oniscu C., Trofin A., Roumanian Biotech. Letters, 14(6), 4835, 2009.
16. Oniscu C., Vlase C., Pește G., Journal of Biomed. And Biotechnolog., 2009, p.1047.
17. Oniscu C., Ursu I.,Brevet RO 129897,2003
18. Oniscu C.; Chimia si tehnologia medicamentelor, Ed.Tehnica, Bucuresti, 1988, pag. 301;
19. REGULAMENTUL (CE) NR. 440/2008 AL COMISIEI din 30 mai 2008 de stabilire a metodelor de testare în temeiul Regulamentului (CE) nr. 1907/2006 al Parlamentului European si al Consiliului privind înregistrarea, evaluarea, autorizarea si restrictionarea substantelor chimice (REACH)
20. Trofin A., Oniscu C., Roumanian Biotech. Letters, 14(4), 4501, 2009.
21. Trofin Alina – Cercetari privind obținerea și experimentarea de noi biostimulatori, Universitatea Tehnica "Gh. Asachi" Iași. , 2003
22. Waldvogel E., Eichenbergher E., Eur. Pat. 702003/1994.
23. Yang G., Liu H., Pesticide Science, 55(12), 1143, 1999.