

UŽITNÝ VZOR

(11) Číslo dokumentu:

36 873

(13) Druh dokumentu: **U1**

(51) Int. Cl.:

A01C 1/06 (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)
C12N 1/14 (2006.01)
C12N 1/12 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2022-40510**
(22) Přihlášeno: **22.11.2022**
(47) Zapsáno: **24.02.2023**

- (73) Majitel:
EcoFuel Laboratories s.r.o., Praha 9, Libeň, CZ
Botanický ústav AV ČR, v. v. i., Průhonice, CZ
RABBIT Trhový Štěpánov a.s., Trhový Štěpánov,
CZ
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze,
Praha 6, Dejvice, CZ
- (72) Původce:
doc. Ing. Petr Kaštánek, Ph.D., Praha 2, Vinohrady,
CZ
prof. RNDr. Miroslav Vosátka, CSc., Kamenice,
Struhařov, CZ
Ing. Zdeněk Jandejsek, Zruč nad Sázavou, CZ
Eva Baldassarre Švecová, Praha 4, Braník, CZ
Mgr. Lenka Fišarová, Ph.D., Olomouc, Klášterní
Hradisko, CZ
Josef Krejčík, Plzeň, Nová Hospoda, CZ
Ing. Olga Kronusová, Praha 5, Stodůlky, CZ
Ing. Lucie Reinišová, Praha 6, Dejvice, CZ
Mgr. Blanka Vlasáková, Ph.D., Praha 4, Chodov,
CZ
- (74) Zástupce:
Mgr. Klára Labalestra, advokátka, Na poříčí
1041/12, 110 00 Praha 1, Nové Město

- (54) Název užitého vzoru:
**Formulace obalovací směsi na semena
konopí**

Formulace obalovací směsi na semena konopí

Oblast techniky

5

Technické řešení se týká formulace obalovací směsi na semena konopí.

Dosavadní stav techniky

10

V posledních několika desetiletích byly předloženy významné vědecké důkazy o léčebné využitelnosti konopí pro řadu lidských onemocnění a stavů. Léčebné vlastnosti jsou připisovány bioaktivním látkám obsaženým v pryskyřicích, které jsou v největším množství produkovány samičími květenstvími. Z bioaktivních látek je největší význam připisován fytoKANABINOIDŮM. Výzkum však prokázal, že konopí obsahuje i celou řadu dalších bioaktivních látek, a to zejména terpenů a flavonoidů, které navíc mohou působit synergicky.

Obsah bioaktivních látek je však vysoce závislý nejen na genotypu rostlin, ale také na kultivačních podmínkách. Kultivace v pěstírnách umožňuje nastavit optimální podmínky pro produkci a standardizaci obsahu bioaktivních látek. Optimalizace podmínek je velmi náročný proces. Produkce materiálu pro farmakologii za současných legislativních podmínek jen velmi těžko umožňuje kultivaci léčebného konopí v jiném než hydroponickém systému a s použitím jiných než minerálních ošetření, jejichž produkce a zpracování odpadu představuje riziko pro životní prostředí.

25

Aktuálně dochází celosvětově k úpravám a uvolňováním legislativy, která umožňuje pěstovat konopí pro terapeutické účely v jinak než ve formě léčivých přípravků, a proto bez nutnosti dodržení striktních podmínek pro farmaceutickou produkci. Naopak velmi žádanými se stávají organické a bio způsoby kultivace terapeutického konopí, tedy v substrátu a za využití prostředků ekologického zemědělství. Vzhledem k novosti problematiky neexistují ustálené prostředky a postupy pro organickou kultivaci terapeutického konopí v pěstírnách nebo obecně v nádobách v režimu ekologického zemědělství.

30

V ekologickém zemědělství jsou běžně využívány rostlinám prospěšné mikroorganismy jako jsou bakterie podporující růst rostlin, bakterie fixující dusík, arbuskulární mykorrhizní houby a *Trichoderma*, které mohou snížit používání agrochemikálií a zvýšit výnosy, výživu a toleranci rostlin vůči biotickým a abiotickým stresům.

35

V rámci tohoto řešení je použita směs mikroorganismů. Některé složky jsou komerčně využívány především ve formě inokula přidávaného do substrátu. Mykoparazitická houba *Trichoderma harzianum* je součástí komerčních směsí, například T.A. Organic Soil Light-mix, T.A. Trilogic, Canna Coco Professional Plus, Plagron Cocos Premium. Na bázi této houby jsou registrovány přípravky: Root Pro, Trichodex (Izrael), RootShield, PlantShield, T22 Planterbox (USA), Trianum (Holandsko).

45

Bakteriální kmeny, jež byly izolovány z ozdobnice obrovské, jsou součástí pomocného přípravku ENDOSTIM B, kterému byla Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským dle rozhodnutí č. 4496 ze dne 29. 5. 2017 udělena registrace jako pomocného rostlinného přípravku. ENDOSTIM B je pomocný rostlinný přípravek, složený ze směsi endofytních (tj. v pletivech rostlin žijících) bakterií *Pseudomonas* sp. 50OK6, *Bacillus mojavensis* 50K7C2 a *Variovorax boronicumulans* 50OK5 na inertním rašelinném nosiči. Přípravek je určený k inokulaci in vitro propagovaných sazenic ozdobnice a vegetativně propagovaných rychle rostoucích topolů. Rozhodnutí vypršelo dne 31. 12. 2021. Přípravek se aplikuje pod kořenový systém sazenic. Potřeba inokula je nepoměrně vyšší než v případě ukotvení mikroorganismů na semeno.

55

V současnosti se u pěstitelů a zemědělských firem využívá inokulace osiv a rostlin N-fixujícími bakteriemi. Produkty Nitrazon+N, Azotobag a Nitrazon, které obsahují inokula symbiotických bakterií rodu *Azotobacter*, *Rhizobium* a *Bacillus megatherium*, se aplikují se na osivo. Při klíčení dochází k jejich rozvoji, podpoře kořenové soustavy především fixací dusíku, bakterie využívají rostliny jako zdroj cukerných látek. Na trhu jsou dostupní prodejci takto inokulovaných osiv: SELGEN, a.s. Sibřina, OSEVA PRO, s.r.o., OLSEED, a.s. Olomouc, SEED SERVICE, s.r.o. Vysoké Mýto, ČESKÁ OSIVA Chlumecko spol. s.r.o., DRUŽINA Dačice spol. s.r.o., Rolnické družstvo Bezno, AGROKOMP, s.r.o. Slovensko.

Produkty obsahující mykorrhizní houby jsou založeny na půdní aplikaci přímé inokulace kořenů specifickým substrátem obohaceným o spory hub. Z firem, které se zabývají distribucí substrátů s inokulem mykorrhizních hub, lze zmínit Symbiom (DE SANGOSSE Group), RAŠELINA a.s., AGRO CS a.s. V zahraničí jsou známy firmy, které mají zkušenosti s produkcí produktů na bázi biologických preparátů InoculumPLUS SAS (Francie) nebo MICROGAIA BIOTECH Ltd. (Španělsko).

Bioagens s využitím mikrořas jsou v současnosti používány jako biostimulanty na bázi hnědých mořských řas *Sargassum*, *Ascophyllum nodosum* a *Laminaria*. Jedná se o extrakční produkty na bázi mořských plevelných makrořas, jako jsou *Ascophyllum nodosum* (Algavit, Symbiom), výtažky z mořských řas (Alginure, Biocont).

Velkoplošnému použití prospěšných mikroorganismů a jejich směsí brání vysoké množství inokula na rostlinu nebo na pěstební plochu, které je nutné pro úspěšnou kolonizaci, technicky problematická kombinovatelnost inokulí (kapalné versus pevné), a tím i ekonomická proveditelnost. Výhodou je možnost kombinovat několik taxonomicky i funkčně velmi odlišných prospěšných mikroorganismů a cíleně a efektivně je vnést do kultivačního systému přímo do místa působení potažením osiva. Mikrobiální potahování osiva, které zahrnuje použití pojiva, v některých případech plniva, smíchaného s inokulem, může být provedeno pomocí jednoduchého míchacího zařízení. Obalování semen se však potýká s několika problémy, a to zejména se stabilitou materiálu a ovlivněním klíčivosti obalených semen. Obě charakteristiky jsou významně závislé na morfologii (zejména velikosti) a fyziologii semen, a tedy i na rostlinném druhu. Tyto dvě charakteristiky mohou být vzájemně propojené. Mechanicky stabilní obal může bránit prorůstání radikuly (kořínku), a tak negativně ovlivňovat proces klíčení a vzházení, a to zejména u menších a středně velkých semen, mezi něž se dá řadit i konopí. Vzhledem k tomu, že cena za jedno semeno terapeutického konopí se pohybuje v desítkách korun, jedná se o významný problém. Méně mechanicky odolný obal pak při transportu semen opadává, čímž dochází k poklesu účinnosti a ztrátě standardizace ošetření.

Zaniklé patenty US 5916029 A a EP 0818135 A1 popisují řešení obalení semen směsí obsahující jílu a symbiotické bakterie fixující dusík. Obaly tvořené jílem nejsou vhodná pro menší semena. Řešení nezahrnuje další prospěšné mikroorganismy. Patent AU 2014342393 B2 popisuje způsob ošetření semen zahrnující aplikaci povlaku alginátu obsahujícího minerální prostředky ochrany rostlin jako fungicidy, insekticidy a nematocidy. Toto řešení není vhodné pro organickou kultivaci.

Podstata technického řešení

Předmětem technického řešení je formulace obalovací směsi na semena konopí, která obsahuje na jedno semeno alespoň 10^5 KTJ kmene *Variovorax boronicumulans* 50OK5, alespoň 10^5 KTJ kmene *Pseudomonas aeruginosa* 50OK6, alespoň 10^5 KTJ kmene *Bacillus subtilis* 50OK7C2, 10 až 100 spor arbuskulárně mykorrhizních hub, 0,1 až 1,0 mg sprejově sušené biomasy *Dictyosphaerium chlorelloides* CCALA 330, 0,3 až 63,0 mg práškového inokula *Trichoderma harzianum* obsahující alespoň 10^5 KTJ, 0 až 3 mg xanthanu a 0,2 až 1,26 mg zesíťovaného alginátu sodného. Spory arbuskulárně mykorrhizních hub přednostně obsahují na silikátovém

nosiči druhy *Rhizophagus irregularis*, *Septoglomus deserticola* a *Funneliformis mosseae* s výhodou v poměru 1:1:1 KTJ.

- 5 Součástí obalové směsi jsou typicky tři kmeny specifických bakteriálních kmenů izolovaných z ozdobnice obrovské. Dále je součástí biomasa mikrořasy a kultury půdních a symbiotických hub. Formulace se proto vyznačuje mechanickou stabilitou, vysokou životaschopností a kompatibilitou bakteriálních inokulantů, a též jeho aplikace neredukuje klíčivost semen. Mikroorganismy jsou zakotveny v biodegradovatelné směsi nosičů.
- 10 Použité kmeny endofytních bakterií jsou známy svým pozitivním efektem na produkci biomasy a odolnost rostlin, který je primárně založen na produkci fytohormonů a jiných sekundárních metabolitů. Pozitivní efekt symbiózy s arbuskulárně mykorhizními houbami zahrnuje zvyšování příjmu živin a vody, tvorbu ochranné bariéry proti fytopatogenům a růst produkce sekundárních metabolitů. *Trichoderma harzianum* je známa svou schopností produkovat širokou škálu sekundárních metabolitů, antibiotických látek a enzymů degradujících buněčnou stěnu. Tyto vlastnosti jsou využitelné k ochraně rostlin proti fytopatogenním mikroorganismům. Zvyšuje též podíl kořenů kolonizovaných arbuskulárně mykorhizními houbami. Polysacharidy mikrořas jsou schopny ovlivňovat klíčení a růst rostlin.
- 15
- 20 Výhodami technického řešení jsou vysoká mechanická stabilita, kompatibilita bakteriálních kmenů prokázaná křížovými testy, zachování vysoké životnosti bakteriálního inokula, minimálně 40 % původní KTJ, a také klíčivost konopných semen, která dosahuje minimálně 90 % klíčivosti semen bez obalení.
- 25 Výhodou technického řešení je také možnost vnést do substrátu s kontrolovanou kvalitou, avšak mikrobiálně chudého, specifický set mikroorganismů k podpoře růstu, zefektivnění výživy a standardizaci výnosu, přičemž je možné kombinovat rozdílné skupiny rostlinám prospěšných mikroorganismů jak v kapalné, tak i práškové formě inokula. Mikroorganismy jsou vneseny cíleně do místa účinku (na semeno), a tudíž může být aplikační dávka výrazně nižší než v případě
- 30 aplikace do substrátu.

Příklady uskutečnění technického řešení

- 35 Obal s vysokou koncentrací spor arbuskulárně mykorhizních hub a nižší koncentrací ostatních rostlinám prospěšných mikroorganismů

40 Připraví se 1 000 ml 0,625 % (w/v) vodného roztoku alginátu sodného ($\eta_{1\% \text{ roztok}}$ 15 až 25 cP) tím, že do autoklávovatelné uzavíratelné nádoby se přidá 6,25 g alginátu sodného a doplní se do 1 000 ml destilovanou vodou. Směs se míchá na magnetické míchačce do doby, než se alginát plně rozpustí. Krok by neměl trvat více než 60 min. Roztok se v autoklávu 20 min sterilizuje při teplotě 121 °C.

45 Takto připravený zásobní roztok se využije k přípravě kapalné složky formulace zahrnující inokulum bakteriálních kmenů. Vodné suspenze bakteriálních buněk o koncentraci $1 \cdot 10^8$ KJT/ml se homogenizují pomocí Vortexu. Smíchá a homogenizuje se 6,7 ml od suspenze každého kmene a 80 ml zásobního roztoku alginátu sodného.

50 Připraví se 1 000 ml zásobního 0,1M roztoku CaCl_2 tím, že se celkem 11,098 g CaCl_2 rozpustí v 1 000 ml destilované vody. Roztok se protřepá ručně nebo 5 min na třepačce. Roztok se sterilizuje v autoklávu 20 min při teplotě 121 °C.

55 Připraví se zásobní mix práškových inokulantů a zahušťovadla. Komponenty se naváží v množství 87,2 g inokula arbuskulárně mykorhizních hub, 3,0 g inokula *Trichoderma harzianum*, 9,5 g biomasy *Dictyosphaerium chlorelloides* CCALA 330 a 0,3 g xanthanu. Směs se

důsledně homogenizuje.

Reprezentativní množství dávkovaných komponent pro škálování na 10 g semen je 34,2 ml suspenze bakterií v alginátu, 5,7 g zásobního mixu práškových inokulantů a 333 ml zásobního 0,1M roztoku CaCl₂. Do nádoby se suspenzí bakterií v alginátu se za intenzivní homogenizace převede mix práškových inokulantů.

Tímto postupem se obdrží formulace obalovací směsi na semena konopí, která obsahuje na jedno semeno množství 4 · 10⁵ KTJ kmene *Variovorax boronicumulans* 50OK5, 4 · 10⁵ KTJ kmene *Pseudomonas aeruginosa* 50OK6, 4 · 10⁵ KTJ kmene *Bacillus subtilis* 50OK7C2, 40 spor arbuskulárně mykorhizních hub, 1,0 mg sprejově sušené biomasy *Dictyosphaerium chlorelloides* CICALA 330, 0,3 mg práškového inokula *Trichoderma harzianum* obsahující celkem 3 · 10⁵ KTJ, 0,03 mg xanthanu a 0,3 mg zesíťovaného alginátu sodného. Spory arbuskulárně mykorhizních hub obsahují na silikátovém nosiči druhy *Rhizophagus irregularis*, *Septoglomus deserticola* a *Funneliformis mosseae* v poměru 1:1:1. Bakteriální inokulum KTJ formulace má alespoň 40% životnost původního KTJ.

Poté se vmíchají semena konopí. Připraví se nádoba se síťovacím roztokem CaCl₂ a magnetickým míchadlem. Semena se obalí viskózním roztokem a přenesou se po jednom do síťovacího roztoku, kde se za stálého míchání ponechají po dobu 1 h. Po uplynutí stanoveného času se semena přenesou na síto a třikrát se propláchnou destilovanou vodou. Obalená semena se krátce (max. 30 min) ponechají na netkané textilii, aby oschnula. Poté se semena suší na podložce v sušárně při 25 °C po dobu minimálně 10 h pro vysušení hydrogelového obalu na xerogelový. Usušená semena, která se skladují v uzavřené nádobě, mají homogenní obal tvořen polymerním filmem z formulace obalovací směsi, který je mechanicky stabilní, po intenzivním třepání semen při 320 ot./min po dobu 4 h s odrolem formulace maximálně 5 %, a mají alespoň 90 % klíčivosti neošetřených semen.

Obal se střední koncentrací spor arbuskulárně mykorhizních hub a rostlinám prospěšných mikroorganismů

Připraví se 1 000 ml 1,25 % (w/v) vodného roztoku alginátu sodného ($\eta_{1\%}$ roztok 15 až 25 cP) tím, že do autoklávovatelné uzavíratelné nádoby se přidá 12,5 g alginátu sodného a doplní se do 1 000 ml destilovanou vodou. Směs se míchá na magnetické míchačce do doby, než se alginát plně rozpustí. Krok by neměl trvat více než 60 min. Roztok se v autoklávu 20 min sterilizuje při teplotě 121 °C.

Takto připravený zásobní roztok se využije k přípravě kapalné složky formulace zahrnující inokulum bakteriálních kmenů. Vodné suspenze bakteriálních buněk o koncentraci 1 · 10⁹ KJT/ml se homogenizují pomocí Vortexu. Smíchá a homogenizuje se 6,7 ml od suspenze každého kmene a 80 ml zásobního roztoku alginátu sodného.

Připraví se 1 000 ml zásobního 0,1M roztoku CaCl₂ tím, že se celkem 11,098 g CaCl₂ rozpustí v 1 000 ml destilované vody. Roztok se protřepá ručně nebo 5 min na třepačce. Roztok se sterilizuje v autoklávu 20 min při teplotě 121 °C.

Připraví se zásobní mix práškových inokulantů a zahušťovadla. Komponenty se naváží v množství 56,1 g inokula arbuskulárně mykorhizních hub, 38,5 g inokula *Trichoderma harzianum*, 1,5 g biomasy *Dictyosphaerium chlorelloides* CICALA 330 a 3,9 g xanthanu. Směs se důsledně homogenizuje.

Reprezentativní množství dávkovaných komponent pro škálování na 10 g semen je 34,2 ml suspenze bakterií v alginátu, 4,4 g zásobního mixu práškových inokulantů a 333 ml zásobního 0,1M roztoku CaCl₂. Do nádoby se suspenzí bakterií v alginátu se za intenzivní homogenizace převede mix práškových inokulantů.

Tímto postupem se obdrží formulace obalovací směsi na semena konopí, která obsahuje na jedno semeno množství $4 \cdot 10^6$ KTJ kmene *Variovorax boronicumulans* 50OK5, $4 \cdot 10^6$ KTJ kmene *Pseudomonas aeruginosa* 50OK6, $4 \cdot 10^6$ KTJ kmene *Bacillus subtilis* 50OK7C2, 20 spor arbuskulárně mykorhizních hub, 0,1 mg sprejově sušené biomasy *Dictyosphaerium chlorelloides* CCALA 330, 3,1 mg práškového inokula *Trichoderma harzianum* obsahující celkem $3,1 \cdot 10^6$ KTJ, 0,3 mg xanthanu a 0,6 mg zesíťovaného alginátu sodného. Spory arbuskulárně mykorhizních hub obsahují na silikátovém nosiči druhy *Rhizophagus irregularis*, *Septoglomus deserticola* a *Funneliformis mosseae* v poměru 1:1:1. Bakteriální inokulum KTJ formulace má alespoň 40% životnost původního KTJ.

Poté se vmíchají semena konopí. Připraví se nádoba se síťovacím roztokem CaCl_2 a magnetickým míchadlem. Semena se obalí viskózním roztokem a přenesou se po jednom do síťovacího roztoku, kde se za stálého míchání ponechají po dobu 1 h. Po uplynutí stanoveného času se semena přenesou na síto a třikrát se propláchnou destilovanou vodou. Obalená semena se krátce (max. 30 min) ponechají na netkané textilií, aby oschnula. Poté se semena suší na podložce v sušárně při 25°C po dobu minimálně 10 h pro vysušení hydrogelového obalu na xerogelový. Usušená semena, která se skladují v uzavřené nádobě, mají homogenní obal tvořen polymerním filmem z formulace obalovací směsi, který je mechanicky stabilní, po intenzivním třepání semen při 320 ot./min po dobu 4 h s odrolem formulace maximálně 5 %, a mají alespoň 90 % klíčivosti neošetřených semen.

Obalená semena se vysejí do sadbovačů obsahujících zeolit a zalévají vodou s upraveným pH na 6,5. Během 11 dnů jsou sazenice připravené k přesazení do pěstebního systému.

Předpěstované sazenice se přesadí do květináčů AutoPot o objemu 15 l naplněných organickým pěstebním substrátem Light-Mix od společnosti BioBizz. Tento substrát je označen certifikáty Control Union Certifications: Organic EU Input a Control Union Certifications: National Organic Program (NOP) Input prokazující organický původ použitých složek. První týden jsou rostliny zavlažovány ručně dle potřeby. Od druhého týdne po zasazení jsou rostliny zavlažovány automaticky s pomocí ventilu, který je součástí systému AutoPot. Pro zavlažování je použita pouze čistá voda s upraveným pH na 6,5. Jako hnojivo je použito tuhé organické hnojivo BioTabs 2x za kultivační cyklus. Pro podporu kvetení je aplikováno tekuté hnojivo BioTabsBIO PK 5-8 4x za kultivační cyklus. Po celou dobu pěstebního cyklu je udržována koncentrace CO_2 na 700 ppm. Osvětlení rostlin zajišťují LED pěstební moduly rakouské výroby SanLight Q6W 2. generace. Zpočátku je nastavena hustota fotosynteticky aktivních fotonů na $450 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$, následně je zvýšena na $750 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$. Denní a noční teploty a relativní vlhkost vzduchu jsou upravovány v průběhu kultivačního cyklu v závislosti na růstovém stádiu.

Obal s nízkou koncentrací spor arbuskulárně mykorhizních hub a vysokou koncentrací ostatních rostlinám prospěšných mikroorganismů

Připraví se 1 000 ml 0,625 % (w/v) vodného roztoku alginátu sodného ($\eta_{1\%}$ roztok 15 až 25 cP) tím, že do autoklávovatelné uzavíratelné nádoby se přidá 6,25 g alginátu sodného a doplní se do 1 000 ml destilovanou vodou. Směs se míchá na magnetické míchačce do doby, než se alginát plně rozpustí. Krok by neměl trvat více než 60 min. Roztok se v autoklávu 20 min sterilizuje při teplotě 121°C .

Takto připravený zásobní roztok se využije k přípravě kapalné složky formulace zahrnující inokulum bakteriálních kmenů. Vodné suspenze bakteriálních buněk o koncentraci $1 \cdot 10^{10}$ KJT/ml se homogenizují pomocí Vortexu. Smíchá a homogenizuje se 6,7 ml od suspenze každého kmene a 80 ml zásobního roztoku alginátu sodného.

Připraví se 1 000 ml zásobního 0,1M roztoku CaCl₂ tím, že se celkem 11,098 g CaCl₂ rozpustí v 1 000 ml destilované vody. Roztok se protřepá ručně nebo 5 min na třepačce. Roztok se sterilizuje v autoklávu 20 min při teplotě 121 °C.

- 5 Připraví se zásobní mix práškových inokulantů a zahušťovadla. Komponenty se naváží v množství 3,5 g inokula arbuskulárně mykorhizních hub, 95,0 g inokula *Trichoderma harzianum* a 1,5 g biomasy *Dictyosphaerium chlorelloides* CCALA 330. Směs se důsledně homogenizuje.

- 10 Reprezentativní množství dávkovaných komponent pro škálování na 10 g semen je 34,2 ml suspenze bakterií v alginátu, 35,9 g zásobního mixu práškových inokulantů a 333 ml zásobního 0,1M roztoku CaCl₂. Do nádoby se suspenzí bakterií v alginátu se za intenzivní homogenizace převede mix práškových inokulantů.

- 15 Tímto postupem se obdrží formulace obalovací směsi na semena konopí, která obsahuje na jedno semeno množství 4·10⁷ KTJ kmene *Variovorax boronicumulans* 50OK5, 4·10⁷ KTJ kmene *Pseudomonas aeruginosa* 50OK6, 4·10⁷ KTJ kmene *Bacillus subtilis* 50OK7C2, 10 spor arbuskulárně mykorhizních hub, 1,0 mg sprejově sušené biomasy *Dictyosphaerium chlorelloides* CCALA 330, 62,9 mg práškového inokula *Trichoderma harzianum* obsahující celkem 6,3·10⁷ KTJ, a 0,3 mg zesíťovaného alginátu sodného. Spory arbuskulárně mykorhizních hub 20 obsahují na silikátovém nosiči druhy *Rhizophagus irregularis*, *Septoglomus deserticola* a *Funneliformis mosseae* v poměru 1:1:1. Bakteriální inokulum KTJ formulace má alespoň 40% životnost původního KTJ.

- 25 Poté se vmíchají semena konopí. Připraví se nádoba se síťovacím roztokem CaCl₂ a magnetickým míchadlem. Semena se obalí viskózním roztokem a přenesou se po jednom do síťovacího roztoku, kde se za stálého míchání ponechají po dobu 1 h. Po uplynutí stanoveného času se semena přenesou na síto a třikrát se propláchnou destilovanou vodou. Obalená semena se krátce (max. 30 min) ponechají na netkané textilií, aby oschnula. Poté se semena suší na podložce v sušárně při 25 °C po dobu minimálně 10 h pro vysušení hydrogelového obalu na xerogelový. 30 Usušená semena, která se skladují v uzavřené nádobě, mají homogenní obal tvořen polymerním filmem z formulace obalovací směsi, který je mechanicky stabilní, po intenzivním třepání semen při 320 ot./min po dobu 4 h s odrolem formulace maximálně 5 %, a mají alespoň 90 % klíčivosti neošetřených semen.

35

Průmyslová využitelnost

- 40 Technické řešení je využitelné při kultivaci terapeutického konopí v pěstírnách nebo obecně v nádobách v režimu ekologického zemědělství, kdy jsou rostliny pěstovány v organickém substrátu.

NÁROKY NA OCHRANU

- 5 1. Formulace obalovací směsi na semena konopí, **vyznačující se tím**, že obsahuje na jedno semeno alespoň 10^5 KTJ kmene *Variovorax boronicumulans* 50OK5, alespoň 10^5 KTJ kmene *Pseudomonas aeruginosa* 50OK6, alespoň 10^5 KTJ kmene *Bacillus subtilis* 50OK7C2, 10 až 100 spor arbuskulárně mykorhizních hub, 0,1 až 1,0 mg sprejově sušené biomasy *Dictyosphaerium chlorelloides* CCALA 330, 0,3 až 63,0 mg práškového inokula *Trichoderma harzianum* obsahující alespoň 10^5 KTJ, 0 až 3 mg xanthanu a 0,2 až 1,26 mg zesíťovaného alginátu sodného.
- 10 2. Formulace obalovací směsi na semena konopí podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že spory arbuskulárně mykorhizních hub obsahují na silikátovém nosiči druhy *Rhizophagus irregularis*, *Septoglomus deserticola* a *Funneliformis mosseae*.
- 15 3. Formulace obalovací směsi na semena konopí podle nároku 2, **vyznačující se tím**, že druhy *Rhizophagus irregularis*, *Septoglomus deserticola* a *Funneliformis mosseae* jsou v poměru 1:1:1 KTJ.