

ROYAUME DU MAROC

OFFICE MAROCAIN DE LA PROPRIÉTÉ (19)
INDUSTRIELLE ET COMMERCIALE



المملكة المغربية

المكتب المغربي
للملكية الصناعية والتجارية

(12) BREVET D'INVENTION

(11) N° de publication : **MA 42329 A1** (51) Cl. internationale : **A01N 63/00; A01C 1/06**
(43) Date de publication : **31.08.2018**

(21) N° Dépôt : **42329**
(22) Date de Dépôt : **21.07.2016**
(30) Données de Priorité : **28.10.2015 EP 15382531.0**
(86) Données relatives à la demande internationale selon le PCT: **PCT/ES2016/070554 21.07.2016**
(71) Demandeur(s) : **FERTINAGRO BIOTECH, S.L., Polígono Industrial La Paz parcelas 185-188 44195 Teruel (ES)**
(72) Inventeur(s) : **ATARES REAL, Sergio ; ROMERO LOPEZ, Joaquin ; SALAET MADORRAN, Ignasi ; FERRER GINES, María ; NARANJO OLIVERO, Miguel Angel ; COLOM TOMAS, Elena**
(74) Mandataire : **ATLAS INTELLECTUAL PROPERTY**

(54) Titre : **TRAITEMENT PERMETTANT D'AMÉLIORER LA GERMINATION DE SEMENCES, ET SEMENCES TRAITÉES DE CETTE MANIÈRE**

(57) Abrégé : L'invention concerne un traitement permettant d'améliorer la germination de semences, ainsi que des semences qui incorporent ledit traitement, le traitement consistant à appliquer un revêtement à base d'une solution aqueuse d'une enzyme présentant une activité de phytase sur la surface des semences, et sécher ultérieurement le revêtement pour obtenir une semence sèche. La présence de cette enzyme dans un revêtement facilite l'hydrolyse du phosphore phytique, le rendant plus accessible pour la semence et a

ABRÉGÉ**TRAITEMENT POUR AMÉLIORER LA GERMINATION DE GRAINES ET
GRAINES TRAITÉES AINSI**

5

L'invention fait référence à un traitement pour améliorer la germination de graines, ainsi qu'aux graines qui incorporent ledit traitement, où le traitement consiste à appliquer sur la surface des graines un enrobage à base d'une solution aqueuse d'une enzyme avec une activité phytasique et un séchage ultérieur de l'enrobage pour obtenir une graine sèche. La présence de cette enzyme sur un enrobage favorise l'hydrolysatation du phosphore phytique, le rendant plus accessible pour la graine et, en outre, améliorant sa germination.

10

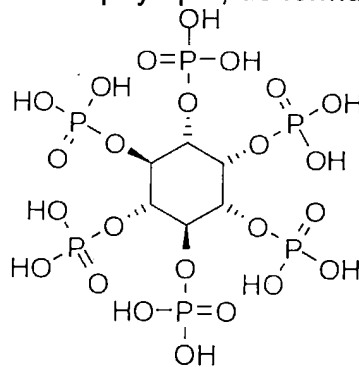
**TRAITEMENT POUR AMÉLIORER LA GERMINATION DE GRAINES ET
GRAINES TRAITÉES AINSI**

La présente invention fait référence à un traitement pour améliorer la germination de graines, ainsi qu'aux graines qui incorporent ledit traitement.

Plus concrètement, l'invention fait référence à un traitement pour améliorer la germination de graines, en particulier de plantes riches en acide phytique telles que les céréales, les légumineuses, les fruits secs, le traitement consistant à doter les graines d'un enrobage qui comporte un agent avec une activité phytasique. La présence de cette enzyme sur un enrobage favorise l'hydrolysatation du phosphore phytique, le rendant plus accessible pour la graine et, en outre, améliorant sa germination.

L'un des problèmes que rencontre aujourd'hui l'agriculture, en particulier l'agriculture extensive, est le pourcentage et l'efficacité dans le processus de germination des différentes cultures.

À cet égard, le phosphore est un composant vital pour le développement des plantes étant donné qu'il s'agit d'un élément essentiel dans de nombreux processus biologiques, étant indispensable dans les processus germinatifs. Le phosphore s'accumule dans les graines et dans le fruit sous forme de phosphore organique, où il est essentiel pour la formation et le développement de la graine. L'acide phytique sous forme de phytate est la forme principale de stockage de phosphore dans les légumineuses, les céréales, les graines oléagineuses, avec des valeurs comprises entre 1-5 % du poids et qui représentent y compris jusqu'à 6 % en poids à l'état sec de la graine. Ci-après, il est montré la formule de l'acide phytique, de formule $C_6H_{18}O_{24}P_6$.



Néanmoins, ce phosphore accumulé sous forme d'acide phytique n'est pas assimilé efficacement par la plante, puisque l'action des phytases endogènes peut ne pas être suffisante pour libérer tout le phosphore phytique

des graines, réduisant ainsi le potentiel du processus de germination.

Actuellement, les enzymes phytases sont très étudiées, il s'agit d'un produit amplement utilisé dans l'alimentation des animaux monogastriques (qui ne peuvent pas digérer le phytate), étant donné qu'il s'agit d'une enzyme capable d'hydrolyser le phytate et de libérer le phosphore organique, rendant ainsi le phosphore accessible pour l'animal.

Ainsi différentes options pour l'utilisation de ces enzymes dans la nutrition végétale sont en train d'être étudiées étant donné que le phytate représente une majeure partie du phosphore organique se trouvant au sol et que les plantes n'ont pas directement accès à ce dernier. À cet égard, les phytases, les meso-inositol hexaphosphate phosphohydrolases, catalysent l'excision des groupes phosphate de l'acide phytique ou du phytate, donnant naissance à un groupe phosphate de l'acide libre et à un ester d'inositol phosphate inférieur.

Étant donné que le phosphore est un élément essentiel pour la croissance des êtres vivants, il est nécessaire de compléter le développement de ces derniers avec du phosphore inorganique assimilable. Pour ce faire, la plupart des engrais utilisés comme amendement de fond ou comme démarreur (inducteurs de la germination) fournis incorporent de l'azote et une quantité élevée de phosphore dans leurs formulations. Cela constitue un facteur de contamination des sols, puisque le phosphore inorganique fournit n'est pas entièrement exploité par les plantes, une partie de ce dernier sur les sols s'étant accumulée, ce qui à long terme peut provoquer de longs problèmes de contamination des eaux zonales et une eutrophisation ultérieure.

D'autre part, le phosphore organique présent sur le sol se présente sous une forme non assimilable par la plante et ne peut pas être utilisé par cette dernière dans le processus de germination. Comme il a été mentionné, la plupart du phosphore organique dans la nature se présente sous la forme de groupes phosphates liés aux groupes de carbone, formant la structure typique de réserve connue comme phytate ou acide phytique. Celle-ci est la forme principale de stockage de phosphore organique dans les légumineuses, les céréales, les graines oléagineuses. Pour ce faire, pour exploiter ce phosphore, l'action d'enzymes phosphatases endogènes facilitant la libération de ce phosphore organique est nécessaire. Le phytate est considéré en outre comme un facteur antinutritionnel dû à son habilité à séquestrer des ions bivalents

comme le zinc, le magnésium, le calcium et le fer, évitant la disponibilité de ces derniers pour la plante (Reyes-Moreno C, Paredes-López O. 1993. Hard-to-cook phenomenon in common beans (*Phaseolus vulgaris*) - A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 33 : 224-286).

5 il a démontré que le contenu de phosphore organique sous forme d'acide phytique dans les céréales diminue à mesure que l'activité endogène d'enzymes phosphatases du propre végétal augmente (Sandberg 1991 ; Sripriya et al. 1997 ; Centeno et al. 2001). Très peu d'activité de l'enzyme phosphatase intracellulaire a été détectée dans les graines non germées, alors
10 que pendant le processus de germination l'activité phytase augmente considérablement et les niveaux de phytate diminuent (Konietzny et al. 1995 ; Viveros et al. 2000).

Dans ce contexte, une phosphatase est une enzyme (EC 3.1.3) du groupe des estérases qui catalyse l'élimination de groupes phosphate de
15 certains substrats organiques, donnant naissance à la libération d'une molécule d'ion phosphate et à l'apparition d'un groupe hydroxyle là où le groupe phosphate était estérifié.

Dans les phosphatases il existe différentes familles d'enzymes en fonction du substrat qu'elles sont capables d'hydrolyser. Ainsi nous pouvons
20 trouver des protéines-phosphatases, des phosphatases qui agissent sur le phosphore lié aux protéines et consacrées principalement à la régulation de processus cellulaires et des phosphatases acides et des phosphatases basiques, qui se trouvent sur le sol, étant ségréguées par différents microorganismes ou par les propres plantes. La fonction de ces dernières
25 phosphates est la libération du phosphore lié à la matière organique du sol et le rendant ainsi accessible aussi bien pour les microorganismes que pour les plantes (J.C. Tarafdar et al. 1987). Dans ce deuxième groupe de phosphatases nous trouvons des phosphatases spéciales appelées phytases. Ces enzymes ont une spécificité sur l'acide phytique.

30 Ainsi, il serait souhaitable d'apporter sur la surface de la graine un ajout d'enzyme phytase étant capable d'hydrolyser le phosphore sous forme de phytate que contiennent les couches externes de la graine, augmentant l'accessibilité de la graine à cette réserve de phosphore et favorisant la vitesse et le taux de germination, en termes de pourcentage de germination de cette
35 dernière. Dans la présente description, le concept « pourcentage de

germination » fait référence au pourcentage de graines germées dans un échantillon relatif à une durée et à des conditions de germination déterminées.

Au vu de ce qui précède, un objet de l'invention est de fournir un traitement pour améliorer la germination de graines de plantes riches en acide phytique, telles que les céréales, les légumineuses, les fruits secs, le traitement consistant à doter les graines d'un enrobage qui comporte un agent avec une activité phytasique capable d'hydrolyser le phosphore sous forme de phytate que contiennent les couches externes de la graine. La présence de cette enzyme sur un enrobage favorise l'hydrolyse du phosphore phytique, le rendant plus accessible pour la graine et, en outre, améliorant la vitesse et le taux de germination. Le traitement de l'invention permettrait également de minimiser la fréquence et la quantité d'engrais appliqués, maximisant à son tour la quantité de phosphore disponible pour les plantes.

Un objet de l'invention est également les graines enrobées traitées avec le traitement selon l'invention.

Bien que pendant la germination la propre graine synthétise l'enzyme phytase capable de libérer une partie du phosphore de l'acide phytique pour son propre développement, mais pas suffisamment pour tirer profit du contenu total de phytate que contient la graine, l'apport de phytase exogène fournit une plus grande activité enzymatique, obtenant ainsi un rendement plus important lors de l'hydrolyse de l'acide phytique et, par conséquent, une plus grande concentration de phosphore assimilable.

Comme il a été mentionné ci-dessus, l'acide phytique est considéré comme un antinutriments de par sa capacité de retenir les ions bivalents. Donc, un autre avantage de l'invention est le bénéfice que l'ajout de phytase a sur la libération de ces ions dû à la rupture de l'acide phytique, donnant en outre à la graine les nutriments nécessaires pour son développement.

L'invention fournit un traitement pour améliorer la germination de graines, en particulier de plantes riches en acide phytique, le traitement consistant à doter les graines d'un enrobage qui comporte une enzyme avec une activité phytasique, qui favorise l'hydrolyse du phosphore phytique, le rendant plus accessible pour la graine et, en outre, améliorant sa germination.

Bien que l'enzyme avec une activité phytasique ne soit pas particulièrement limitée, dans une réalisation de l'invention la phytase employée est celle décrite dans la demande de brevet WO 2011/141613, du propre

demandeur.

Le traitement de l'invention consiste à appliquer sur la surface des graines un enrobage à base d'une solution aqueuse d'une enzyme avec une activité phytasique et un séchage ultérieur de l'enrobage pour obtenir une
5 graine sèche.

Dans une réalisation de l'invention, ladite solution aqueuse comporte un tampon organique, de préférence un tampon organique ajusté à un pH entre 3 et 9, et en particulier un tampon citrate/acide citrique ajusté à un pH entre 4,5 et 8,5.

10 À cet égard, les phytases sont extrêmement faibles, exprimant son activité maximale à un pH qui varie entre 5,0 et 7,5. Pour ce faire, dans une réalisation l'enrobage contient un apport d'un acide organique dans le but de tamponner le moyen et de ne pas perdre d'activité enzymatique.

Dans une réalisation spécialement préférée de l'invention, la solution
15 aqueuse qui contient l'enzyme avec une activité phytasique est une solution aqueuse à 5 % d'acide citrique ajusté à pH 5,5-8 avec une dissolution aqueuse d'hydroxyde potassique à 20 %.

Dans une autre réalisation de l'invention, la quantité d'enzyme avec une activité phytasique ajoutée à l'enrobage sous la forme d'une solution aqueuse
20 tamponnée avec un tampon citrate/acide citrique à pH 5,5-8 oscille entre 50 FTU/Kg de graine et 2 000 000 FTU/kg de graine, FTU étant des unités de phytase, c'est la quantité d'enzyme nécessaire pour libérer 1 μ mol de phosphore inorganique par minute, de 0,0051 mol/l de phytate de sodium, à un pH de 5,5, à 37 °C.

25 La façon d'appliquer l'enrobage liquide décrit sur les graines n'est pas particulièrement limitée, des techniques de pulvérisation, d'immersion, etc. pouvant être employées. Ce qui a été dit ci-dessus est également applicable au séchage de l'enrobage afin d'obtenir une graine enrobée sèche, des techniques de séchage à l'air à température ambiante ou à températures élevées, le
30 séchage à l'air chaud, etc., pouvant être appliquées, tant que les propriétés de l'enrobage comportant l'enzyme avec une activité phytasique ne soient pas altérées.

Pour vérifier l'efficacité du traitement selon l'invention, une solution aqueuse tamponnée a été préparée tel qu'il a été décrit ci-dessus à laquelle ont
35 été ajoutées différentes quantités d'enzyme avec une activité phytasique selon

ce qui est montré dans les exemples suivants. Ultérieurement les graines d'orge, de blé et de lentille ont été enrobées avec la solution préparée et des essais de germination dans des chambres de culture ont été réalisés, dans ces exemples utilisant la phytase décrite dans le brevet WO 2011/141613. Pour tous les exemples le pourcentage de germination par rapport à la durée ainsi que la longueur moyenne du germe ont été calculés. À titre de contrôle les graines correspondantes sans enrobage ont été employées. Les conditions d'essai ont été les suivantes :

- Température de travail : entre 2 °C et 40 °C
- Périodes de lumière : 10-13 heures de lumière non directe et 11-14 heures d'obscurité
- Humidité de travail : 2-25 %.

Les essais ont eu un suivi toutes les 12 heures, les graines germées et la longueur de la racine primaire ou hypocotyle étant comptées.

Exemple 1

Des graines d'orge tel qu'il a été décrit ci-dessus ont été traitées en appliquant l'enrobage tamponné avec des concentrations croissantes d'enzyme avec une activité phytasique de 0 FTU à 2 000 000 FTU/kg de graine et ont été séchées. Les graines ont été ultérieurement semées dans une chambre de culture. Le pourcentage de germination et la longueur moyenne du germe ont été calculés. Les résultats ont été montrés dans le Tableau suivant :

FTU/Kg de graine	Pourcentage de germination				
	24 heures	48 heures	72 heures	96 heures	120 heures
contrôle	0	0	21	68	74
50	0	0	18	69	69
500	0	25	46	87	91
5 000	0	83	83	87	96
50 000	0	91	91	93	100
500 000	0	89	100	100	100
2 000 000	0	93	95	95	97
	Longueur moyenne du germe (mm)				
	24 heures	48 heures	72 heures	96 heures	120 heures
Contrôle	0	0	8	30	48
50	0	1	10	41	54
500	0	3	25	66	81

5 000	0	9	41	85	99
50 000	0	13	55	104	126
500 000	0	13	59	150	186
2 000 000	0	20	73	189	212

Exemple 2

5 Des graines de blé telles qu'il a été décrit ci-dessus ont été traitées en appliquant l'enrobage tamponné avec des concentrations croissantes d'enzyme avec une activité phytasique de 0 FTU à 2 000 000 FTU/kg de graine et ont été séchées. Les graines ont été ultérieurement semées dans une chambre de culture. Le pourcentage de germination et la longueur moyenne du germe ont été calculés. Les résultats ont été montrés dans le Tableau suivant :

FTU/Kg de graine	Pourcentage de germination				
	24 heures	48 heures	72 heures	96 heures	120 heures
contrôle	0	0	18	56	77
50	0	0	23	69	82
500	0	22	41	76	81
5 000	0	91	91	93	97
50 000	0	87	89	92	95
500 000	0	97	97	100	100
2 000 000	0	89	98	98	100
	Longueur moyenne du germe (mm)				
	24 heures	48 heures	72 heures	96 heures	120 heures
Contrôle	0	1	16	30	48
50	0	8	29	39	63
500	0	9	45	73	96
5 000	0	22	61	99	109
50 000	0	24	87	118	185
500 000	0	43	109	177	201
2 000 000	0	79	114	189	258

10 Exemple 3

Des graines de lentille telles qu'il a été décrit ci-dessus ont été traitées en appliquant l'enrobage tamponné avec des concentrations croissantes d'enzyme ayant une activité phytase de 0 FTU à 2 000 000 FTU/kg de graine et

ont été séchées. Les graines ont été ultérieurement semées dans une chambre de culture. Le pourcentage de germination et la longueur moyenne du germe ont été calculés. Les résultats ont été montrés dans le Tableau suivant :

FTU/Kg de graine	Pourcentage de germination				
	24 heures	48 heures	72 heures	96 heures	120 heures
contrôle	0	3	68	81	81
50	0	2	23	74	87
500	5	81	93	93	95
5 000	8	84	87	89	89
50 000	7	87	91	91	97
500 000	8	92	92	93	93
2 000 000	6	97	97	97	97
	Longueur moyenne du germe (mm)				
	24 heures	48 heures	72 heures	96 heures	120 heures
Contrôle	0	0	15	19	20
50	0	0	16	25	27
500	0	12	19	32	35
5 000	0	16	22	39	41
50 000	0	21	29	44	50
500 000	0	20	34	49	58
2 000 000	0	29	41	66	96

- 5 Comme il peut être observé à partir des résultats des exemples précédents, le traitement de l'invention améliore autant le pourcentage de germination que la longueur moyenne du germe comparée aux graines non traitées.

REVENDEICATIONS

1. Traitement pour améliorer la germination de graines, caractérisé en ce qu'il consiste à appliquer sur la surface des graines un enrobage à base d'une solution aqueuse d'une enzyme avec une activité phytasique et un séchage postérieur de l'enrobage pour obtenir une graine sèche.
5
2. Traitement pour améliorer la germination de graines selon la revendication 1, caractérisé en ce que la solution aqueuse qui contient l'enzyme avec une activité phytasique comporte un tampon d'acide organique ajusté à un pH entre 3 et 9.
10
3. Traitement pour améliorer la germination de graines selon la revendication 2, caractérisé en ce que le tampon d'acide organique est un tampon citrate/acide citrique ajusté à un pH entre 4,5 et 8,5.
15
4. Traitement pour améliorer la germination de graines selon la revendication 3, caractérisé en ce que la solution aqueuse qui contient l'enzyme avec une activité phytasique est une solution aqueuse à 5 % d'acide citrique ajusté à pH 5,5-8 avec une dissolution aqueuse d'hydroxyde potassique à 20 %.
20
5. Traitement pour améliorer la germination de graines selon la revendication 1, caractérisé en ce que la quantité d'enzyme avec une activité phytasique ajoutée à l'enrobage sous la forme d'une solution aqueuse tamponnée oscille entre 50 FTU/Kg de graine et 2 000 000 FTU/kg de graine, FTU étant des unités de phytase, c'est la quantité d'enzyme nécessaire pour libérer 1 μmol de phosphore inorganique par minute, de 0,0051 mol/l de phytate de sodium, à un pH de 5,5, à 37 °C.
25
30
6. Graine sèche caractérisée en ce qu'elle est séchée avec un traitement selon l'une quelconque des revendications 1 à 5.



**RAPPORT DE RECHERCHE
AVEC OPINION SUR LA BREVETABILITE**
(Conformément aux articles 43 et 43.2 de la loi 17-97 relative à la
protection de la propriété industrielle telle que modifiée et
complétée par la loi 23-13)

Renseignements relatifs à la demande	
N° de la demande : 42329	Date de dépôt : 21/07/2016 Date d'entrée en phase nationale : 19/04/2018
Déposant : FERTINAGRO BIOTECH, S.L.	Date de priorité : 28/10/2015
Intitulé de l'invention : TRAITEMENT PERMETTANT D'AMÉLIORER LA GERMINATION DE SEMENCES, ET SEMENCES TRAITÉES DE CETTE MANIÈRE	
Le présent document est le rapport de recherche avec opinion sur la brevetabilité établi par l'OMPIC conformément aux articles 43 et 43.2, et notifié au déposant conformément à l'article 43.1 de la loi 17-97 relative à la protection de la propriété industrielle telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.	
Les documents brevets cités dans le rapport de recherche sont téléchargeables à partir du site http://worldwide.espacenet.com , et les documents non brevets sont joints au présent document, s'il y en a lieu.	
Le présent rapport contient des indications relatives aux éléments suivants :	
Partie 1 : Considérations générales	
<input checked="" type="checkbox"/> Cadre 1 : Base du présent rapport <input type="checkbox"/> Cadre 2 : Priorité <input type="checkbox"/> Cadre 3 : Titre et/ou Abrégé tel qu'ils sont définitivement arrêtés	
Partie 2 : Rapport de recherche	
Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité	
<input type="checkbox"/> Cadre 4 : Remarques de clarté <input checked="" type="checkbox"/> Cadre 5 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle <input type="checkbox"/> Cadre 6 : Observations à propos de certaines revendications dont aucune recherche significative n'a pu être effectuée <input type="checkbox"/> Cadre 7 : Défaut d'unité d'invention	
Examineur: A. BRINI	Date d'établissement du rapport : 05/07/2018
Téléphone: 212 5 22 58 64 14/00	

Partie 1 : Considérations générales		
Cadre 1 : base du présent rapport		
Les pièces suivantes de la demande servent de base à l'établissement du présent rapport :		
<ul style="list-style-type: none"> • <u>Description</u> 8 Pages • <u>Revendications</u> 6 • <u>Planches de dessin</u> Aucune page 		
Partie 2 : Rapport de recherche		
Classement de l'objet de la demande :		
CIB : A01N63/00, A01C1/06		
Bases de données électroniques consultées au cours de la recherche :		
EPOQUE, Orbit		
Catégorie*	Documents cités avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	N° des revendications visées
Y	MARIA C. PILAR et al: "Alkaline Phosphatase-Polyresorcinol Complex: Characterization and Application to Seed Coating". Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 57, N°5, 11-03-2009, pages 1967-1974.	1-6
Y	BIJENDER SINGH et al: "Plant Growth Promotion by an Extracellular HAP-Phytase of a Thermophilic Mold Sporotrichum thermophile". Applied Biochemistry and Biotechnology, vol. 160, N°5, 01-03-2010, pages 1267-1276.	1-6
Y	PRADNYA D GUJAR et al: "Effect of phytase from Aspergillus niger on plant growth and mineral assimilation in wheat (Triticum aestivum Linn) and its potential for use as a soil amendment". Journal of the Science of Food and Agriculture, vol. 93, N°9, 28-01-2013, pages 2242-2247	1-6
*Catégories spéciales de documents cités :		
-« X » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément -« Y » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier -« A » document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent -« P » documents intercalaires ; Les documents dont la date de publication est située entre la date de dépôt de la demande examinée et la date de priorité revendiquée ou la priorité la plus ancienne s'il y en a plusieurs -« E » Éventuelles demandes de brevet interférentes. Tout document de brevet ayant une date de dépôt ou de priorité antérieure à la date de dépôt de la demande faisant l'objet de la recherche (et non à la date de priorité), mais publié postérieurement à cette date et dont le contenu constituerait un état de la technique pertinent pour la nouveauté		

Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité

Cadre 5 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle

Nouveauté (N)	Revendications 1-6 Revendications aucune	Oui Non
Activité inventive (AI)	Revendications aucune Revendications 1-6	Oui Non
Possibilité d'application Industrielle (PAI)	Revendications 1-6 Revendications aucune	Oui Non

Il est fait référence aux documents suivants. Les numéros d'ordre qui leur sont attribués ci-après seront utilisés dans toute la suite de la procédure

D1: MARIA C. PILAR et al: "Alkaline Phosphatase-Polyresorcinol Complex: Characterization and Application to Seed Coating".

D2: BIJENDER SINGH et al: "Plant Growth Promotion by an Extracellular HAP-Phytase of a Thermophilic Mold *Sporotrichum thermophile*".

D3: PRADNYA D GUJAR et al: "Effect of phytase from *Aspergillus niger* on plant growth and mineral assimilation in wheat (*Triticum aestivum* Linn.) and its potential for use as a soil amendment".

1. Nouveauté (N) :

Aucun des documents susmentionnés ne divulgue les mêmes caractéristiques techniques telles que décrites dans les revendications 1-6, d'où celles-ci sont nouvelles conformément à l'article 26 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.

2. Activité inventive (AI) :

Le document D1 qui est considéré comme étant l'art antérieur le plus proche de l'objet de la revendication 1 divulgue l'utilisation d'un enrobage de graines de phosphatase stable comme moyen pour réaliser une solubilisation localisée du phosphate organique en tant que moyen particulièrement important dans les premiers stades de l'établissement des semis »(page 1967, colonne droite); La figure 8 montre comment les graines enrobées, dès l'émergence des racines, ont une activité phosphatase plus élevée comme effet positif sur l'absorption du phosphate et la croissance des plantes par rapport aux graines qui ne sont pas enrobées d'une phosphatase.

L'objet de la revendication 1 diffère du document D1 par le fait qu'une enzyme avec une activité phytase est utilisée à la place d'une phosphatase dans un enrobage de semence.

Aucun effet technique découlant de cette différence n'est démontré.

Le problème que la présente demande se propose de résoudre peut être considéré comme étant la fourniture d'un traitement alternatif pour améliorer germination des graines.

La solution proposée est évidente pour les raisons suivantes:

L'utilisation de champignon produisant de la phytase ou de l'enzyme phytase elle-même pour hydrolyser des phytates insolubles et pour favoriser la croissance des plantes est connue de D2 (introduction). Dans le document D2, les graines elles-mêmes sont traitées avec du compost contenant de la phytase,

améliorant ainsi la germination dès l'apparition des racines.

De manière analogue, D3 décrit l'utilisation de la phytase en tant que promoteur de la croissance des plantes, dans laquelle l'enzyme est appliquée à des graines sont semées; la phytase détermine une augmentation de la longueur des racines.

Chacun des documents D2 et D3 enseigne que la phytase hydrolyse le phytate du sol et augmente la quantité de phosphore assimilable, améliorant ainsi la germination dès les premières étapes, dès que les racines apparaissent à partir des graines; de plus, ils enseignent la compatibilité de l'enzyme phytase utilisée en tant que telle dans le sol.

Partant de ce qui précède, l'homme du métier serait en mesure de formuler l'enzyme phytase dans un enrobage pour graines car les avantages ainsi réalisés sont facilement prévisibles. Ainsi, partant de D1 et au vu de D2 ou D3, l'homme du métier résoudrait le problème technique posé de façon évidente.

Les revendications dépendantes 2 à 6 ne semblent pas contenir de caractéristiques additionnelles qui, combinées aux caractéristiques de l'une quelconque des revendications auxquelles elles se rapportent, répondent aux exigences en ce qui concerne l'activité inventive, les raisons étant les suivantes: l'art est conscient que chaque enzyme a une plage d'activité de pH optimale, donc l'homme du métier recherchera les conditions idéales lors de la préparation d'une solution. De manière analogue, l'ajustement de la quantité de l'enzyme relève de la pratique habituelle de l'homme du métier.

3. Possibilité d'application industrielle (PAI) :

L'objet de la présente invention est susceptible d'application industrielle au sens de l'article 29 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13, parce qu'il présente une utilité déterminée, probante et crédible.