



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2011 01205**

(22) Data de depozit: **23.11.2011**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **29.01.2016** BOPI nr. 1/2016

(41) Data publicării cererii:
28.09.2012 BOPI nr. 9/2012

(73) Titular:

- **INSTITUTUL DE CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU PROTECȚIA PLANTELOR**,
BD. ION IONESCU DE LA BRAD NR. 8,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
- **INSTITUTUL DE CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU VITICULTURĂ ȘI VINIFICAȚIE VALEA CĂLUGĂREASCĂ**, STR. VALEA MANTEI
NR. 2, VALEA CĂLUGĂREASCĂ, PH, RO

(72) Inventatori:

- **ANDREI ANA-MARIA**, STR. PORUMBACU
NR. 9, BL. 31, SC. 1, ET. 4, AP. 29, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;

- **FĂTU ANA-CRISTINA**,
STR. TUDOR VLADIMIRESCU, BLD 9, AP. 6,
MOINEȘTI, BC, RO;
- **FĂTU VIOREL**, COMUNA GRIVIȚA, IL, RO;
- **FICIU LIDIA**, STR. VALEA STĂLPULUI
NR. 96, SAT OLTENI, COMUNA TEIȘANI,
PH, RO;
- **GHEORGHE MARIA**, STR. NICOVANI
NR. 25, VALEA CĂLUGĂREASCĂ, PH, RO;
- **CAZACU SILVIA**, STR. VALEA POENII
NR. 30, VALEA CĂLUGĂREASCĂ, PH, RO

(56) Documente din stadiul tehnicii:

WO 2010/068081 A1; US 2011/0038839 A1

(54) **PROCEDEU DE ÎMBOGĂȚIRE MICROBIOLOGICĂ A UNOR FERTILIZANȚI ORGANICI PENTRU PREVENIREA INFESTĂRII CU FILOXERĂ A CULTURILOR VITICOLE**



RO 127797 B1

1 Invenția se referă la un procedeu de îmbogățire microbiologică a unor fertilizanți
organici pentru prevenirea infestării cu filoxeră a culturilor viticole.

3 *Beauveria bassiana* și *B. brongniartii* sunt fungi entomopatogeni al căror habitat de
origine este solul, și care se utilizează la scară comercială, pentru obținerea de
5 bioinsecticide. Utilizarea mranitei și a compostului ca substrat nutritiv pentru tulpinile de
Beauveria este justificată de faptul că, având origine apropiată de vițele sălbatice, culturile
7 de portaltoi pentru viticultură produc mari cantități de material vegetal, ceea ce face necesară
asigurarea unui agrofond superior, prin administrare de nutrienți în sol, sub formă de
9 îngrășăminte organice.

Rezultate semnificative în acest domeniu se referă la dezvoltarea unor fertilizanți
11 biologici de interes agricol, care utilizează microorganisme bacteriene sau fungice ca
inoculanți microbieni sau inoculanți de sol; acestea sporesc proprietățile biologice ale solului,
13 și au efect direct asupra plantelor, stimulând creșterea acestora, favorizând dezvoltarea
sănătoasă a sistemului radicular, îmbunătățind rezistența la stres, mărind astfel capacitatea
15 de apărare împotriva atacurilor agenților de dăunare. În Grecia a fost descris un procedeu
de obținere a unui fertilizant organic pentru culturile de măslin, viță de vie și cartof, constând
17 în procesarea biologică a deșeurilor lichide provenite din prelucrarea măslinelor, utilizate ca
substrat pentru cultivarea unor bacterii fixatoare de azot (*Azotobacter vinelandii*)
19 [Chatjipavlidis, I., M. Antonakou, D. Demou, F. Flouri and C. Balis - 1996. Bio-
fertilization of olive oil mills liquid wastes. The pilot plant în Messinia, Greece. Volume
21 38, Issues 3-4, 183-187]. În Taiwan, a fost descris un procedeu de obținere a unui fertilizant
biologic pe bază de bacterii lipolitice (*Brevibacillus borstelensis*) [Shu-Hsien Tsai, Ching-
23 Piao Liu, Shang-Shyng Yang - 2007. Microbial conversion of food wastes for
biofertilizer production with thermophilic lipolytic microbes. Renewable Energy.
25 Volume 32, Issue 6, 904-915]. În Egipt, a fost descris un procedeu de îmbogățire
microbiologică a unor fertilizanți (*Rice Straw Composting*) prin inocularea unor actinomicete
27 din genurile *Micromonospora*, *Streptomyces* și *Nocardiodetes* [Hesham M. Abdulla - 2007.
Enhancement of Rice Straw Composting by Lignocellulolytic Actinomycete Strains.
29 International Journal Of Agriculture & Biology, 106-109]. Sunt, de asemenea, cunoscute
rezultate privind rolul unor amestecuri formate din produse de fertilizare și agenți de control
31 biologic (*Bacillus thuringiensis*, *Beauveria bassiana*) în protecția culturilor de ceapă față de
atacul unor dăunători [Sabbour, M.M., Abbass, M.H. - 2006. The role of some bioagent
33 mixed with some fertilizers for the control onion pests. Journal of Applied Sciences
research, 2 (9): 624-628]. În Pakistan s-au publicat rezultate privind eficacitatea în
35 combaterea moliei *Phthorimaea operculella* a unor amestecuri de fertilizanți cu
microorganisme entomopatogene (*Bacillus thuringiensis*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium*
37 *anisopliae*) [Sabbour, M.M. - 2006. Effect of some fertilizers mixed with bioinsecticides
on the potato tuber moth *Phthorimaea operculella* infesting potato in the field and
39 store. Pak. J. Biol. Sci., 9 (10): 1929-1934]. Diferiți fungi inoculanți au fost studiați pentru
efectul lor benefic asupra nutriției plantelor [Marschner, P., Timonen, S.- 2004. Interactions
41 between plant species and mycorrhizal colonization on the bacterial community
composition in the rhizosphere. Applied Soil Ecology 28: 23-36]. Un procedeu original
43 de inoculare a unei tulpini de *Beauveria bassiana* în locurile de hibernare ale dăunătorului
Stelidota geminata a fost descris de Patrick & Fernando (1997) [Patrick, D., Fernando, V.
45 (1997). Autoinoculative Dispersal of Bioactive Agents by Sap Beetles (Technical
Abstract). National Entomological Society of America Annual Meeting]. Alte rezultate
47 în acest domeniu au fost sintetizate în *Handbook of microbial biofertilizers* [Ray, M.K. - 2006.
Handbook of microbial biofertilizers, 2006. (M.K. Ray, ed.)].

RO 127797 B1

Se prezintă documente de brevet în acest domeniu: *Method and apparatus for producing organic fertiliser with the use of nitrogen fixing Bacillus (US 5071462)*, *Biological inoculant effective against Aphanomyces (US 5244658)*, *Produit d'addition biologique pour fertilisants organominéraux (WO 2001032587)*, *Plant growing media (US 6645267)*, *Soil conditioner and slow release bio-pesticidal and fertilizer composition (US 6596324)*, *Biological addition to organic-mineral fertilizers (US 6939688 B1)*, *Mycoattractants and mycopesticides (US 7122176 B2)*, *Procedeu de obținere a biopreparatelor agroinoculante cu bacterii în stare de dormanță (RO 123144 B1)*.

WO 2010/068081 A1 se referă la controlul insectei *Planococcus ficus* pe plante de viță de vie, prin utilizarea de ciuperci entomopatogene, prezentând un produs biotehnologic: un amestec format din genurile *Verticillium*, *Metarhizium*, *Beauveria* și *Paecilomyces* a fost folosit și a demonstrat un grad înalt de potențial în controlul diferitelor insecte dăunătoare. Sunt date o metodologie pentru utilizarea amestecului menționat, precum și proporția cantitativă a componentelor.

US 2011/0038839 A1 prezintă producerea de microscleroți ai fungilor entomopatogeni, cum ar fi specii de *Metarhizium*, *Beauveria* și *Lecanicillium*. Acești microscleroți sunt eficienți pentru combaterea unei game largi de insecte dăunătoare, în special cele care trăiesc în sol.

Biopreparatele și compozițiile fertilizante descrise au dezavantajul de a prezenta un spectru restrâns de aplicabilitate, fiind specifice numai anumitor culturi și/sau agenți de dăunare. În niciunul dintre studiile prezentate substanța biologic activă, de origine bacteriană sau fungică, nu a fost experimentată pentru sporirea caracterului represiv al solului față de colonizarea filoxerei. Produsele testate ca biofertilizanți rezultă adesea din activități agricole sau industriale cu specific local (compost de banane, deșeuri lichide provenite din prelucrarea măslinelor etc.).

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția are la bază principiul agriculturii ecologice privind valorificarea resurselor naturale (microorganisme izolate din focare naturale de infecție), și se referă la dezvoltarea unui produs ecologic, ce reduce substanțial riscul de contaminare cu filoxeră, prin sporirea fertilității și activității biologice a solurilor din culturile viticole.

Procedeu de îmbogățire microbiologică a unor fertilizanți organici, pentru prevenirea infestării cu filoxeră a culturilor viticole, conform invenției, este alcătuit din următoarele etape: selectarea agenților de control biologic pe criterii biotehnologice, epizootologice și de patogenitate; obținerea culturilor fungice inocul în mediu lichid pe bază de glucoză, extract de porumb și săruri, în faza de miceliu vegetativ presporulat; obținerea biomasei fungice inoculante, prin însămânțarea miceliului vegetativ presporulat pe substrat organic nutritiv, până la sporulare completă; sterilizarea mranitei și a compostului în pungi autoclavabile; realizarea amestecurilor dintre biomasa fungică și fertilizanții organici mranită și compost; incubarea amestecurilor în incubator termostat, pentru creșterea și sporularea fungică. Agenții de control biologic sunt tulpini indigene de *Beauveria bassiana* și *B. brongniartii*. Agentul de dăunare este filoxera viței de vie - *Dactylospheara vitifoliae*. Biomasa fungică inoculantă este reprezentată de o cultură fungică sporulată pe substrat nutritiv, care este un biopreparat fungic granulat, reprezentat de boabele de orz.

Prezenta invenție constituie o premieră în domeniul tehnologiilor nepoluante de cultivare a butașilor de viță de vie, și are următoarele avantaje:

- propune un procedeu simplu, necostisitor de sporire a potențialului biologic al unor îngrășăminte naturale, procedeu a cărui aplicare la scară mare nu necesită forță de muncă având calificare înaltă;

RO 127797 B1

1 - oferă o soluție aplicabilă la scară comercială, de eficientizare a procesului de
obținere a biomasei fungice biologic active, prin exploatarea caracterului microciclic al
3 sporogenezei tulpinilor de *Beauveria*, în sensul obținerii unor producții mari de spori (conidii)
în timp scurt;

5 - oferă o soluție de eficientizare ecologică a mijloacelor biologice de protecție a
culturilor viticole, prin utilizarea unor tulpini de *Beauveria*, cu potențial bioecologic adaptat
7 condițiilor pedoclimatice din România, cu cerințe nutriționale simple, cu capacitatea de a
degrada substratul nutritiv reprezentat de mranită și compost;

9 - oferă un mijloc ecologic de prevenire a infestării cu filoxera, cel mai periculos
dăunător al viței de vie, contribuind la diminuarea reziduurilor de pesticide și de poluanți din
11 sol și din pânza de apă freatică.

Procedeele constă în inocularea unor produse organice de fertilizare a culturilor
13 viticole, respectiv, mranită și compost, cu biomasa fungică rezultată prin creșterea tulpinilor
de *Beauveria bassiana* și *B. brongniartii* pe boabe de orz. Verificarea și demonstrarea
15 funcționalității acestui procedeu s-a făcut: (1) în condiții de laborator, pentru evaluarea
măsurii în care agenții de control biologic, care au colonizat substratul nutritiv, reprezentat
17 de fertilizanți organici, și-au menținut potențialul biologic și valențele ecologice, și (2) în
condiții de seră, pentru evaluarea efectului represiv al solului amendat cu fertilizanți
19 organici îmbogățiți microbiologic asupra filoxerei, precum și a efectului de stimulare a
sistemului radicular al plantelor de viță de vie.

21 Se prezintă 5 exemple de realizare a invenției.

Exemplul 1. *Selectarea sursei de material biologic pentru îmbogățirea microbiologică
23 a fertilizanților organici*

S-au făcut izolări monosporale, pornind de la culturi sporulate de *Beauveria bassiana*
25 și *Beauveria brongniartii*. Cantități mici de conidii prelevate de pe mediu agarizat au fost
dispersate în 20 ml apă sterilă (+0,01% Tween 80) și s-au însămânțat în cutii Petri, pe mediu
27 cartof-glucoză-agar în 3 striuri paralele; conidiile localizate microscopic au fost transferate
cu mediul suport în alt vas de cultură. După purificare, s-a evaluat capacitatea de multiplicare
29 și sporulare în mediu de cultură lichid, precum și virulența izolatelor prin metoda biotestării
(insecta test *Plodia interpunctella*).

Exemplul 2. *Obținerea biomasei fungice inoculante*

31 Având în vedere faptul că microorganismele entomopatogene fungice au un ciclu
biologic bifazic, respectiv, faza de miceliu vegetativ și faza reproductivă, multiplicarea
33 izolatelor fungice monosporale în vederea obținerii biomasei fungice inoculante s-a făcut în
doua etape:
35

- obținerea miceliului vegetativ (inocul fungic lichid), pornind de la colonii pure
37 microbiologic însămânțate pe mediu agarizat, incubate la 25°C, până la sporulare completă,
și transferate apoi într-un mediu de cultură lichid, pe bază de glucoză, extract de porumb și
39 săruri (NaNO₃, MgSO₄ și KH₂PO₄). Mediul lichid a fost repartizat în vase de fermentație,
acoperite cu capișoane de vată și tifon și incubat, în condiții de agitare mecanică, 24 h, la
41 27°C;

- obținerea sporilor (conidii) fungici (biomasă fungică inoculantă) pe mediu de cultură
43 solid, reprezentat de boabe de orz. S-a procedat astfel: boabele de orz s-au cântărit, s-au
spălat sub jet de apă și s-au repartizat în pungi de plastic autoclavabile; după sterilizare
45 (121°C, 30 min), pungile cu substrat nutritiv au fost inoculate cu 1,6% inocul microbial lichid,
obținut în etapa precedentă; substratul nutritiv inoculat a fost apoi incubat în condiții
47 staționare, la 25°C, timp de 28 de zile. Conținutul în substanță activă a biomasei obținute la
sfârșitul perioadei de cultivare a fost de minimum 6x10¹⁰ conidii/g.

RO 127797 B1

Exemplul 3. Evaluarea compatibilității biologice dintre fertilizantii organici (mranită, compost) și tulpinile selectate de <i>B. bassiana</i> și <i>B. brongniartii</i>	1
S-au parcurs următoarele etape:	3
- obținerea biomasei fungice inoculante, prin cultivare pe substrat organic nutritiv, până la sporulare completă;	5
- sterilizarea mranitei și a compostului în pungi autoclavabile (2 h, 1,2 atm);	
- realizarea amestecurilor dintre biomasa fungică și fertilizantii organici mranită și compost: I. compost/biomasă fungică <i>B. bassiana</i> ; II. compost/biomasă fungică <i>B. brongniartii</i> ; III. mranită/biomasă fungică <i>B. bassiana</i> ; IV. mranită/biomasă fungică <i>B. brongniartii</i> ;	7
- incubarea amestecurilor de testat în incubator termostatat pentru microbiologie (SANYO Mir-162), la 25°C, timp de 10 zile, pentru creșterea și sporularea fungică;	9
- examinarea la lupa binocular a amestecurilor test, pentru evaluarea modului de dezvoltare saprofită a tulpinilor fungice, precum și a măsurii în care se face răspândirea patogenului;	11
- cuantificarea sporilor fungici din amestecurile experimentale;	13
- examinarea în culturi artificiale a materialului biologic, pentru evaluarea influenței produselor organice de fertilizare asupra unor parametri biologici ai agenților microbieni inoculanți. Tulpinile fungice au fost reizolate din substraturile organice pe care le-au colonizat, și inoculate pe mediu cartof-glucoză-agar (CGA). S-au făcut măsurători privind creșterea radială a coloniilor fungice, alegându-se randomizat câte 10 colonii/variantă. Pentru cuantificarea producției de spori s-au folosit discuri de hârtie de filtru umectate cu apă sterilă, presate ușor pe suprafața a câte 10 colonii fungice/variantă, alese randomizat. Fiecare disc a fost plasat individual în câte o eprubetă conținând câte 10 ml apă distilată sterilă, cu emulgator Tween 80 (0,02%); eprubetele au fost plasate pe Vortex Mixer (1200 rpm), pentru eliberarea totală a conidiilor. S-au făcut diluții succesive din suspensiile astfel obținute, pentru determinarea hematocitometrică a conidiilor. În mod similar s-a procedat pentru evaluarea variantelor martor, reprezentate de culturi fungice, conservate pe mediu de cultură agarizat, fără să fi fost supuse pasajului prin alte substraturi nutritive. Pentru testul de viabilitate, câte 0,5 ml de suspensie conidiană s-au însămânțat pe mediu agarizat. Cuantificarea viabilității (germinație %) s-a făcut după o perioadă de incubare de 24 h (25±1°C). Pentru testul de virulență, suspensiile de conidii cu titru cunoscut au fost aplicate pe larve de <i>P. interpunctella</i> , utilizate ca <i>insecta test</i> ; după 2 h de contact cu patogenul, larvele au fost plasate pe mediu de creștere. S-au făcut observații de mortalitate larvară după 3...5 zile; au fost luate în considerare, pentru calcularea procentului de mortalitate, numai larvele acoperite cu miceliu fungic. Rezultatele sunt prezentate în tabelul de mai jos.	15
Examinarea culturilor pe substrat nutritiv etalon a evidențiat rate de creștere vegetativă și sporulare care se înscriu în parametrii normali de dezvoltare pe mediu sintetic. Comparativ cu varianta etalon, substratul nutritiv reprezentat de mranită a asigurat o rată medie zilnică de creștere de 1,05 ori mai mare pentru tulpina de <i>B. bassiana</i> , respectiv, de 1,07 ori mai mare pentru tulpina de <i>B. brongniartii</i> . Conidiogeneza, viabilitatea și virulența conidiilor nu au fost influențate negativ de substratul nutritiv. Producțiile de conidii/g substrat (8,6...11,1 conidii x 10 ¹⁰) au fost mari, garantând un inocul patogen însemnat cantitativ.	17
Estimarea viabilității conidiilor a evidențiat un procent mediu de germinare a conidiilor >98%, cu o valoare maximă (100%) în cazul conidiilor de <i>B. brongniartii</i> izolate din mranită, și o valoare minimă (97%) în cazul conidiilor de <i>B. bassiana</i> izolate din compost. Virulența conidiilor izolate din mranită și compost nu a fost afectată de interacțiunea cu produsele organice de fertilizare.	19
	21
	23
	25
	27
	29
	31
	33
	35
	37
	39
	41
	43
	45
	47

RO 127797 B1

1 *Parametrii biologici ai tulpinilor de B. bassiana și B. brongniartii, după reizolare din*
 2 *fertilizanți organici utilizați ca substraturi nutritive pentru multiplicare fungică*

3 5 7 9	Tulpină fungică	Creștere vegetativă/CGA (după 15 zile de la însămânțare)		Conidiogeneza (nr. conidii x10 ¹⁰ /g)	Viabilitate (germinație %)	Virulența (%) mortalitate <i>P. innterpunctella</i>
		dimensiuni medii colonii	rata medie zilnică de creștere			
	Substrat nutritiv: compost					
	<i>B. bassiana</i>	5,7	0,32	8,6	97	91
11	<i>B. brongniartii</i>	3,7	0,24	11,1	99	89
Substrat nutritiv: mranită						
13	<i>B. bassiana</i>	6,1	0,4	9,2	99	92
	<i>B. brongniartii</i>	3,9	0,28	10,9	100	87
Substrat nutritiv etalon: mediu de cultură sintetic (peptonă-dextroză-agar)						
	<i>B. bassiana</i>	5,9	0,38	2,9 (x10 ¹⁰ /cm ²)	100	100
17	<i>B. brongniartii</i>	3,9	0,26	2,4 (x10 ¹⁰ /cm ²)	100	92

19 **Exemplul 4. Evaluarea capacității de colonizare a substratului organic de către**
 20 **tulpinile fungice**

21 Biomasa fungică a fost însămânțată în substraturile organice reprezentate de mranită
 22 și compost în proporție de 1,5%. Începând cu a 15-a zi de incubare la temperatura de
 23 22...24°C (fotofaza 10 h lumină/14 h întuneric), s-au făcut observații privind capacitatea de
 24 colonizare a substratului organic de către tulpinile fungice (creștere miceliană, sporogeneză):
 25 s-a amestecat 1 g substrat test + 200 ml apă sterilă timp de 15 min; suspensiile obținute
 26 după 10 min de decantare au fost însămânțate pe mediu agarizat în cutii Petri (diluție 10⁻⁵).
 27 După 48 h de incubare (25°C) s-au numărat unitățile formatoare de colonii, utilizând
 28 numărator de colonii prevăzut cu marker electric automat și lupă cu putere de mărire 2x. S-a
 29 constatat că, după 15...18 zile de la inoculare, substraturile nutritive reprezentate de mranită
 30 și compost au fost colonizate abundant de tulpinile fungice în proporție de >75%, fiind
 31 identificate hife miceliene atât la suprafața substratului, cât și în adâncime. Numărul de
 32 unități formatoare de colonii a variat între 1,1x10²...1,5x10³ ufc/g, ceea ce demonstrează
 33 faptul că mranita și compostul au fost exploatate în mod eficient ca substrat nutritiv, care a
 34 asigurat creșterea, răspândirea și sporularea fungică (figură).

35 **Exemplul 5. Evaluarea potențialului represiv al solurilor amendate cu fertilizanți**
 36 **organici îmbogățți microbiologic**

37 Experimentele s-au desfășurat în condiții de seră pe soiuri de *Vitis vinifera* cu rezis-
 38 tență diferită la filoxeră: Merlot (foarte sensibil), Purpuriu (slab rezistent) și R 10 (rezistent),
 39 folosind butași din coarde de un an, forțați timp de 4 luni în serele de forțare, apoi plantați în
 40 ghivece cu capacitatea de 6 l (câte 5 ghivece pentru fiecare variantă), și conținând pământ
 41 de țelină amendat cu mranită îmbogățită microbiologic, respectiv, cu compost, îmbogățite
 42 microbiologic, în proporție de 1,5% biomasă fungică obținută prin cultivarea tulpinilor de *B.*
 43 *bassiana*, respectiv, *B. brongniartii*, pe boabe de orz. În varianta martor s-a folosit pământ
 44 de țelină neamendat cu produse de fertilizare. Ghivecele conținând amestecurile experi-
 45 mentale au fost așezate în seră, în condiții optime pentru înrădăcinare și creștere.

RO 127797 B1

Plantele au fost infestate artificial cu filoxeră, prin „metoda alipirii” cu frunze recoltate de la butuci de portaltoi atacați de filoxera galicola - *Dactylosphaera vitifoliae*. Pentru determinarea gradului de răspândire în sol a tulpinilor fungice, s-a făcut analiza microbiologică a solului; pentru aceasta, pe parcursul a 6 luni, s-au prelevat probe de la 2 și 10 cm adâncime, din trei puncte diferite; probele s-au lăsat la uscat, la temperatura de 25°C, timp de 24 h, apoi s-au omogenizat și cântărit câte 1 g/probă. Sistemul radicular al butașilor a fost analizat macroscopic, pentru determinarea aspectului rădăcinilor, dimensiunii și numărului de nodozități, precum și a numărului de gale, ca indicator al nivelului de intensitate al atacului produs de filoxeră. S-a constatat faptul că aportul de materie organică îmbogățită microbiologic a favorizat dezvoltarea abundentă a sistemului radicular al butașilor, precum și diminuarea efectelor produse de filoxera galicola cu valori cuprinse în intervalul 18...30%.

RO 127797 B1

Revendicări

1

3

1. Procedeu de îmbogățire microbiologică a unor fertilizanți organici, pentru prevenirea infestării cu filoxeră a culturilor viticole, **caracterizat prin aceea că** este alcătuit din următoarele etape: selectarea agenților de control biologic pe criterii biotehnologice, epizootologice și de patogenitate; obținerea culturilor fungice inocul în mediu lichid pe bază de glucoză, extract de porumb și săruri, în faza de miceliu vegetativ presporulat; obținerea biomasei fungice inoculante, prin însămânțarea miceliului vegetativ presporulat pe substrat organic nutritiv, până la sporulare completă; sterilizarea mranitei și a compostului în pungi autoclavabile; realizarea amestecurilor dintre biomasa fungică și fertilizanții organici mranită și compost; incubarea amestecurilor în incubator termostațat, pentru creșterea și sporularea fungică.

5

7

9

11

13

2. Procedeu conform revendicării 1, în care agenții de control biologic sunt tulpini indigene de *Beauveria bassiana* și *B. brongniartii*.

15

3. Procedeu conform revendicării 1, în care agentul de dăunare este filoxera viței de vie - *Dactylophaera vitifoliae*.

17

4. Procedeu conform revendicării 1, în care biomasa fungică inoculantă este reprezentată de o cultură fungică sporulată pe substrat nutritiv, care este un biopreparat fungic granulat, reprezentat de boabele de orz.

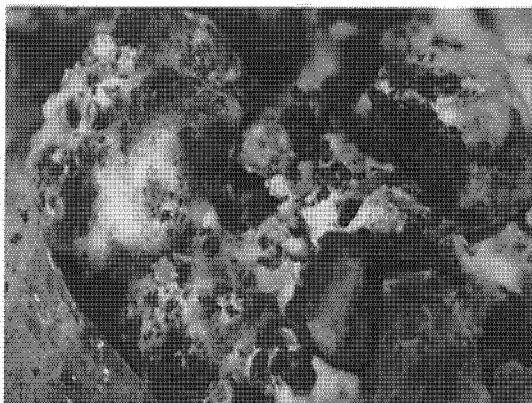
19

(51) Int.Cl.

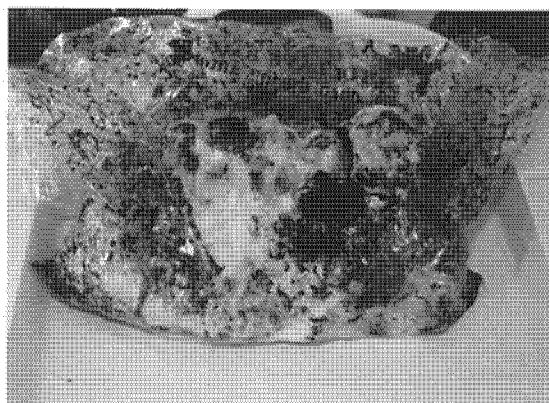
A01N 63/04 (2006.01),

C05F 11/08 (2006.01)

Mranita imbogatita microbiologic

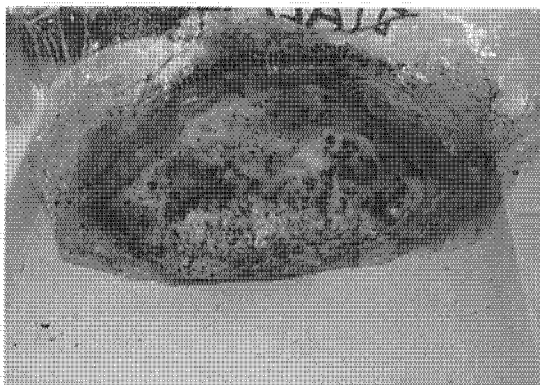


Cultura fungica inoculanta : *Beauveria bassiana*

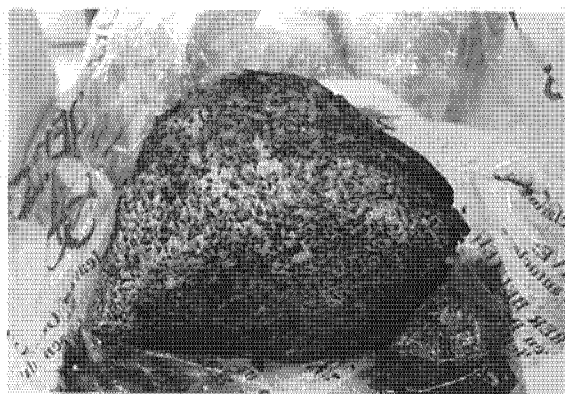


Cultura fungica inoculanta *Beauveria brongniartii*

Compost imbogatit microbiologic



Cultura fungica inoculanta : *Beauveria bassiana*



Cultura fungica inoculanta *Beauveria brongniartii*



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 15/2016