



(12)

## BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2012 00971**

(22) Data de depozit: **07/12/2012**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **29/09/2017** BOPI nr. **9/2017**

(41) Data publicării cererii:  
**30/06/2014** BOPI nr. **6/2014**

(73) Titular:  
• **INSTITUTUL DE CERCETARE-  
DEZVOLTARE PENTRU PROTECȚIA  
PLANTELOR,**  
*BD.ION IONESCU DE LA BRAD NR.8,  
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO*

(72) Inventatori:  
• **CONSTANTINESCU FLORICĂ,**  
*STR. EMANOIL PORUMBARU NR. 67,  
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;*

• **SICUIA OANA,** *STR.VICINA NR.3, BL.33,  
SC.3, AP.153, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B,  
RO;*  
• **DINU SORINA,**  
*BD.ION IONESCU DE LA BRAD NR.8,  
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;*  
• **OANCEA FLORIN,** *STR.PAȘCANI NR.5,  
BL.D 7, SC.E, ET.2, AP.45, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO*

(56) Documente din stadiul tehnicii:  
**WO 2009/037242 A2; US 5215747;**  
**RO a 2010 01379**

(54) **METODĂ DE COMBATERE A CIUPERCILOR  
FITOPATOGENE DE SOL DIN CULTURA DE TOMATE**



# RO 129511 B1

1           Prezenta invenție se referă la o metodă pentru domeniul agricol, destinată combaterii  
2           ciupercilor fitopatogene de sol, care determină putregaiul rădăcinii și al coletului răsadurilor  
3           de tomate.

4           În ultimii 20 de ani, cercetările privind utilizarea unor metode alternative pentru limita-  
5           rea și/sau eliminarea mijloacelor chimice destinate combaterii bolilor și a dăunătorilor plan-  
6           telor s-au intensificat și au condus la elucidarea multor mecanisme care guvernează sistemul  
7           patogen - plantă-mediu. În viitor, din cauza problemelor determinate de utilizarea excesivă  
8           a pesticidelor, mai precis, poluarea mediului și periclitarea sănătății oamenilor, se va pune  
9           un accent crescut pe adoptarea unor practici agricole durabile, care să utilizeze un număr  
10          tot mai mic de pesticide și un număr tot mai mare de bioproduse bazate pe microorganisme  
11          benefice, aplicate în cadrul unor tehnologii complexe de combatere integrată.

12          În literatura de specialitate există date privind combaterea unor boli cauzate de  
13          ciuperci fitopatogene de sol, cum ar fi *Pythium ultimum* și *Penicillium oxalicum*, care atacă  
14          răsadul de porumb, prin aplicarea unor tratamente combinate, biologice și chimice, la  
15          sămânță (Mathre D. E., Johnston, R. H., Callan N. W., Mohan S. K., Martin J. M., Miller  
16          J. B., 1995, “**Combined biological and chemical seed treatments for control of two**  
17          **seedling diseases of sh2sweet corn, Plant Dis., 79: 1145-1148**). Rezultatele au demon-  
18          strat că tratamentul semințelor cu tulpini selecționate de *Pseudomonas spp.* în combinație  
19          cu metalaxil la doza de 100% sau redusă până la 0,01% nu a afectat eficacitatea de com-  
20          batere a bolii.

21          De asemenea, Rose, S., Parker, M., and Punja, Z. K., 2003, “**Efficacy of biological**  
22          **and chemical treatments for control of Fusarium root and stem rot on greenhouse**  
23          **cucumber**”, *Plant Dis.*, 87: 1462-1470, cuprinde date privind posibilitatea utilizării unor  
24          tulpini de *Pseudomonas chlororaphis*, *Trichoderma harzianum*, *Streptomyces griseoviridis*  
25          și *Gliocladium catenulatum* cu calități de agenți de combatere biologică, în amestec cu  
26          fungicidele Tiram și Benomyl, la semănat, pentru combaterea ciupercii *Fusarium oxysporum*  
27          *f.sp. radicis-cucumerinum* din cultura de castraveți.

28          Alte cercetări se referă la utilizarea unor tulpini de ciuperci nepatogene de *Gliocladium*  
29          *virens* cu calități de agent de combatere a ciupercii *Rhizodonia solani*, care determină putregaiul  
30          rădăcinii plantelor de mazăre în câmp, în amestec cu fungicide care au ca substanță activă  
31          tiram (S. F. Hwang, P. Chakravarty, 1993, “**Integrated biological and chemical control**  
32          **of Rhizoctonia root rot of field pea by Gliocladium virens and a fungicide**”, *Journal of*  
33          *Plant Diseases and Protection*, 100 (3), 308-316, ISSN 0340-8159).

34          Figen Yildiz, Mehmet Yildiz, Nafiz Delen, Arzu Cofikuntuna, Pervin Kinay,  
35          Hüseyin Türküsay, 2007, “**The Effects of Biological and Chemical Treatment on Gray**  
36          **Mold Disease in Tomatoes Grown under Greenhouse Conditions**”, *Turkish Journal of*  
37          *Agriculture And Forestry* 31, 319-325, prezintă efectele tratamentelor biologice, pe bază  
38          de tulpini de *P. fluorescens*, și chimice, cu fenhexamid, în combaterea putregaiului cenușiu  
39          al tomatelor cultivate în seră, concluzionând că aceste tratamente au redus semnificativ  
40          apariția bolii față de varianta martorului chimic.

41          Brevetul **US 5215747** prezintă o compoziție mixtă de endospori de *Bacillus subtilis*  
42          și cel puțin un fungicid chimic care este eficace în combaterea uneia sau mai multor ciuperci  
43          fitopatogene din ordinul *Peronosporales*, precum și din clasa Bazidiomicetelor și cea a  
44          Deuteromicetelor. Invenția subliniază eficacitatea crescută a compoziției mixte în combaterea  
45          fitopatogenilor studiați comparativ cu martorul chimic.

46          Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în combaterea ciupercilor fitopa-  
47          togene de sol din cultura de tomate, care permite reducerea dozelor de fungicide recoman-  
48          date și, în același timp, asigură o mai bună eficacitate de combatere.

# RO 129511 B1

Una dintre problemele tehnice tot mai frecvente în combaterea bolilor plantelor este necesitatea reducerii dozelor de substanță activă aplicată/ha în vederea limitării sau evitării efectelor toxice asupra mediului și, totodată, menținerea eficacității produsului în combaterea bolilor.	1 3
Este cunoscut, de asemenea, faptul că aplicarea repetată a aceluiași produs chimic conduce în timp la adaptarea ciupercilor fitopatogene, prin dezvoltarea rezistenței la substanța activă și, prin urmare, pierderea eficacității de combatere a fungicidului.	5 7
Tulpinile care au stat la baza realizării biopreparatelor utilizate în prezentul studiu au fost identificate pe baza secvenței 16S rARN și cu sistemul BIOLOG. Selecția acestora s-a bazat pe calitățile biologice, dintre care pe primul loc s-a situat capacitatea antagonistă <i>in vitro</i> față de ciupercile <i>Fusarium oxysporum f.sp. radices lycopersici</i> , <i>Pythium debaryanum</i> și <i>Rhizodonia solani</i> , și eficacitatea combaterii fitopatogenilor menționați <i>in vivo</i> , în condiții controlate.	9 11 13
Fungicidele experimentate au avut ca substanțe active tiofanat metil și fosetil + pro-pamocarb.	15
Metoda destinată combaterii ciupercilor fitopatogene de sol, care determină putregaiul rădăcinii și al coletului răsadurilor de tomate, constă în utilizarea simultană a unor biopreparate pe bază de tulpini bacteriene autohtone, selecționate, și a unor produse chimice destinate combaterii fitopatogenilor de sol, aplicate în doză redusă.	17 19
Tulpinile care au stat la baza realizării biopreparatelor utilizate în prezentul studiu au fost izolate, caracterizate și selecționate în cadrul laboratorului de bacteriologie din ICDPP, și s-au identificat pe baza secvenței 16S rARN și cu sistemul BIOLOG. Tulpinile bacteriene au fost condiționate sub formă de granule cu eliberare treptată a microorganismelor, și au aparținut speciilor: <i>Bacillus subtilis</i> - tulpinile Usa2 (DSMZ 23654), B49b (NCAIM (P) B001360; GenBank EU334511) și Bce2 (NCAIM (P) B001361); GenBank EU334512); <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> - OS.17 și <i>Bacillus pumilus</i> - OS.15.	21 23 25
Rezultatele au evidențiat o eficacitate mare de combatere a fuzariozei tomatelor în variantă tratată cu biopreparatul pe bază de <i>B. subtilis</i> OS.15 și Topsin 500 SC în doza de 0,07% (E = 96%). În această variantă, comparativ cu celelalte variante de tratament, dar și față de martorul chimic, Topsin 500 SC 0,14% (E = 69%), valoarea eficacității a fost cu mult mai mare. Rezultatele au evidențiat eficacitatea sporită a tratamentelor mixte, comparativ cu valorile eficacității din varianta în care plantele au fost tratate numai cu produsul chimic Topsin 500 SC, chiar dacă doza a fost de 2 ori mai mare (0,14%) decât cea din variantele cu tratamente combinate.	27 29 31 33
În experimentele privind combaterea ciupercii fitopatogene de sol <i>Pythium debaryanum</i> tulpina DSM 62946, <i>in vivo</i> , în condiții de temperatură și umiditate controlate, rezultatele au evidențiat varianta în care semințele au fost tratate cu biopreparatul pe bază de <i>B. subtilis</i> tulpina Bce2, iar solul cu Previcur Energy 840 SL 50%, în care eficacitatea a fost de 80%, această valoare fiind foarte apropiată de cea realizată în varianta martorului chimic (91%).	35 37 39
În experimentele privind combaterea ciupercii fitopatogene de sol <i>Rhizoctonia solani</i> tulpina DSM 63002, <i>in vivo</i> , în condiții de temperatură și umiditate controlate, cea mai mare eficacitate % (ABOTT) s-a înregistrat în variantele în care semințele au fost tratate cu biopreparate granulare pe bază de <i>B. subtilis</i> B49b +Topsin 500 SC 0,7% și <i>B. amiloliquefaciens</i> OS17 + Topsin 500 SC 0,7% (în ambele variante E = 100%), acestea fiind urmate de varianta în care semințele au fost tratate cu preparatul pe bază de <i>B. subtilis</i> OS15 + Topsin 500 SC 0,7% (E = 92%). Observațiile au reflectat faptul că, în majoritatea variantelor în care s-a utilizat din doza produsului chimic în combinație cu produsele biologice, eficacitatea de combatere a bolii a fost semnificativ mai mare decât în varianta martorului chimic (Topsin 500 SC 0,14%, E = 90%).	41 43 45 47 49

# RO 129511 B1

1 Utilizarea metodei noi, destinate combaterii ciupercilor fitopatogene de sol din cultura  
de tomate, prin aplicarea tratamentelor mixte, conduce la reducerea utilizării pesticidelor și,  
3 totodată, la obținerea unor culturi lipsite de reziduuri chimice.

5 Valorile eficacității de combatere a ciupercilor fitopatogene de sol studiate au  
demonstrat faptul că produsele microbiologice aplicate simultan cu cele chimice au contribuit  
semnificativ la reducerea cantității de inocul fungic din sol și, implicit, la protecția plantelor.

7 Realizarea invenției revendicate este exemplificată în continuare.

## Exemplul 1

9 Eficacitatea combaterii ciupercii fitopatogene de sol *Fusarium oxysporum f. sp. radicans*  
*lycopersici* (Forl), *in vivo*, în condiții de temperatură și umiditate controlate, s-a realizat prin  
11 aplicarea la semănat a unor tratamente mixte, bazate pe bioproduse bacteriene granulare  
și tratamente chimice în doză redusă.

13 Tulpinile bacteriene au fost condiționate sub formă de granule cu eliberare treptată  
a microorganismelor, și au aparținut speciilor: *Bacillus subtilis* - tulpinile Usa2 (DSMZ 23654),  
15 B49b (NCAIM (P) B001360; GenBank EU334511) și Bce2 (NCAIM (P) B001361; GenBank  
EU334512); *Bacillus amyloliquefaciens* - OS.17 și *Bacillus pumilus* - OS.15. Acestea au fost  
17 izolate, caracterizate și selecționate în cadrul laboratorului de bacteriologie din ICDPP.

19 Condiționarea sub formă de granule s-a realizat pe baza metodelor descrise de  
**Fravel, D. R., Marois, J. J., Lumsden, R. D. and Connick, W. J., Jr., 1985,**  
21 **“Encapsulation of potențial biocontrol agents in an alginate-clay matrix”,**  
**Phytopathology 75, 774-777** și **Minaxi, Jyoti Saxena, 2011, “Efficacy of rhizobacterial**  
23 **strains encapsulated în nontoxic biodegradable gel matrices to promote growth and**  
25 **yield of wheat plants”, Applied Soil Ecology, 48(3): 301-308.** Succint, pentru condiționare,  
au fost utilizate următoarele materii prime: tampon fosfat salin steril, alginat de sodiu 2%,  
clorură de calciu 2% și soluție salină sterilă 0,8%. La alginatul de sodiu 2% steril s-au  
27 adăugat 20 ml suspensie bacteriană  $10^8$  ufc/ml, apoi amestecul s-a omogenizat circa 15 min.  
Suspensia obținută a fost picurată în soluție  $\text{CaCl}_2$  2%. Granulele au fost lăsate timp de 1 h  
în soluția de  $\text{CaCl}_2$ , apoi s-au spălat de trei ori cu soluție salină sterilă, surplusul de umiditate  
29 fiind îndepărtat. Biopreparatele granulare s-au păstrat în vase Petri sterile, la 4°C.

31 Experiența *in vivo*, privind eficacitatea combaterii ciupercii fitopatogene de sol  
*Fusarium oxysporum f. sp. radicans lycopersici* (Forl, tulpina ZUM2407, IPO-DLO  
Wageningen), a cuprins 8 variante, după cum urmează: V1-OS.17 + TOPSIN®500sc 0,07%,  
33 V2-OS15 + TOPSIN®500sc 0,07%, V3-Usa2 + TOPSIN®500sc 0,07%; V4- B49b +  
TOPSIN®500sc 0,07%; V5-Bce2 + TOPSIN®500sc 0,07%; V6 - martorul chimic  
35 TOPSIN®500sc în doză de 0,14%, V7 - martorul negativ (infectat, netratat) și V8- martorul  
pozitiv (neinfectat).

37 Materialul vegetal utilizat a fost reprezentat de semințe de tomate *Lycopersicon*  
*esculentum*, varietatea HEINZ 2274.

39 Biopreparatele bacteriene granulare, cu o concentrație de  $10^9$  ufc/ml, au fost aplicate  
pe rând, odată cu semănatul ( $33 \text{ g/m}^2$ ).

41 Inoculul fungic a constat în spori de Forl în concentrație de  $2 \times 10^6$  spori/kg sol.

43 Tratamentele chimice au fost realizate la sol, prin distribuire uniformă pe întreaga  
suprafață, folosind produsul comercial TOPSIN 500 SC. În varianta martorului chimic a fost  
utilizată concentrația de 0,14%, recomandată de producător pentru combaterea fuzariozei  
45 la tomate.

47 În variantele tratamentelor mixte, biologice și chimice s-a utilizat TOPSIN 500 SC în  
doză de 0,07%.

# RO 129511 B1

După 4 săptămâni, sistemul radicular al plantelor și coletul au fost analizate în ceea ce privește simptomele caracteristice, și anume, pete brune și porțiuni putrezite. Plantele care nu au prezentat niciun simptom caracteristic bolii au fost considerate sănătoase. Experiența a fost repetată de 3 ori.

Rezultatele au evidențiat o eficacitate mare de combatere a fuzariozei tomatelor în varianta tratată cu biopreparatul pe bază de *B. subtilis* OS. 15 și Topsin 500 SC în doză de 0,07%, de 96% (tabelul 1). În această variantă de tratament, comparativ cu celelalte variante, dar și față de martorul chimic, Topsin 500 SC 0,14% (E = 69%), valoarea eficacității a fost semnificativ mai mare.

Tabelul 1

Eficacitatea tratamentelor mixte, pe bază de biopreparate bacteriene granulare și Topsin 500SC 0,07%, în combaterea putregaiului rădăcinii și coletului (*F. oxysporum f. sp. radidis lycopersici*) la plante de tomate, în condiții de cameră de creștere, la 24 °C (16 h zi), 16 °C (8 h noapte) și 70% umiditate

Varianta de tratament	% plante sănătoase răsărite	Eficacitatea (%) (ABBOT)
V1 - OS. 17 + TOPSIN®500sc 0,07%	98	90
V2 - OS. 15 + TOPSIN®500sc 0,07%	95	96
V3 - Usa2 + TOPSIN®500sc 0,07%	80	63
V4 - B49b + TOPSIN®500sc 0,07%	86	75
V5 - Bce2 + TOPSIN®500sc 0,07%	85	72
V6 - martorul chimic TOPSIN®500sc 0,14%	83	69
V 7 - martorul negativ (infectat, netratat)	46	0
V8 - martorul pozitiv (neinfectat)	100	100

Varianta tratată cu OS. 15 și Topsin 500 SC 0,07% (E = 96%) a fost urmată de varianta în care plantele au fost tratate cu OS. 17 și Topsin 500 SC 0,07% (E = 90%).

Rezultatele au evidențiat eficacitatea sporită a tratamentelor mixte, biologice și chimice, comparativ cu valorile eficacității din varianta în care plantele au fost tratate numai cu produsul chimic Topsin 500 SC, chiar dacă doza a fost de 2 ori mai mare (0,14%) decât cea din variantele cu tratamente combinate. De asemenea, experimentele au demonstrat faptul că produsele microbiologice aplicate simultan cu cele chimice au contribuit semnificativ la reducerea cantității de inocul fungic din sol și, implicit, la protecția plantelor față de *F. oxysporum f. sp. radidis lycopersici*.

## Exemplul 2

Eficacitatea combaterii *in vivo* a ciupercii fitopatogene de sol *Pythium debaryanum* tulpina DSM 62946, în condiții de temperatură și umiditate controlate, s-a realizat prin aplicarea la semănat a unor tratamente mixte, bazate pe bioproduse bacteriene granulare și tratamente chimice în doză redusă. Tulpina de *Pythium debaryanum* DSM 62946 a fost înmprospătată pe mediul cartof glucoză agar (CGA). Inoculul fungic a fost produs pe substrat de orz (200 g semințe) distribuit în două plăci Roux. Plăcile au fost incubate la 20°C, timp de 3 săptămâni.

# RO 129511 B1

1 Tulpinile bacteriene selecționate, OS.15; OS.17; Bce2; Usa2 și B49, au fost cultivate  
pe mediul Luria Bertani, în vederea obținerii de biomasă necesară condiționării acestora sub  
3 formă de granule. Condiționarea acestora s-a realizat așa cum s-a precizat în exemplul 1.  
Experiența *in vivo*, în care a fost studiată eficacitatea tratamentelor mixte în combaterea  
5 ciupercii fitopatogene de sol *Pythium debaryanum*, a cuprins 8 variante, după cum urmează:  
V1 - OS.17 + Previcur Energy 840 SL 50%, V2 - OS.15 + Previcur Energy 840 SL 50%, V3 -  
7 Usa2 + Previcur Energy 840 SL 50%, V4 - B49b + Previcur Energy 840 SL 50%, V5 - Bce2  
+ Previcur Energy 840 SL 50%, V6 - martorul chimic Previcur Energy 840 SL în doză de  
9 100%, V7 - martorul negativ (infectat, netratat), și V8 - martorul pozitiv (neinfectat). Fiecare  
variantă a avut 3 repetiții.

11 Materialul vegetal utilizat a fost reprezentat de semințe de tomate *Lycopersicon  
esculentum*, varietatea HEINZ 2274.

13 Biopreparatele bacteriene granulare, cu o concentrație de  $10^9$  ufc/ml, au fost aplicate  
pe rând, odată cu semănatul ( $33 \text{ g/m}^2$ ).

15 Inoculul fungic a fost aplicat în concentrație de 2%/kg sol, constând în biomasa de  
*Pythium debaryanum* crescută pe substratul de semințe de orz. Tratamentele chimice au fost  
17 realizate la sol, prin distribuire uniformă pe întreaga suprafață, folosind produsul comercial  
Previcur Energy 840 SL. În varianta martorului chimic, a fost utilizată concentrația de 100%,  
19 recomandată de producător pentru combaterea căderii plăntuțelor de tomate. În variantele  
tratamentelor mixte biologice și chimice, s-a utilizat Previcur Energy 840 SL în doză de 50%.

21 După 4 săptămâni, sistemul radicular al plantelor, coletul și tulpinițele au fost anali-  
zate în ceea ce privește simptomele caracteristice, și anume, pete brune, porțiuni putrezite  
23 și plante colapsate ca urmare a putregaiului. Plantele care nu au prezentat niciun simptom  
caracteristic bolii au fost considerate sănătoase. Experiența a fost repetată de 3 ori.

25 Rezultatele au evidențiat varianta în care semințele au fost tratate cu biopreparatul  
pe bază de *B. subtilis* tulpina Bce2, iar solul, cu Previcur Energy 840 SL 50%, iar eficacitatea  
27 a fost de 80%, această valoare fiind foarte apropiată de cea realizată în varianta martorului  
chimic (91%) (tabelul 2).

29 Această variantă a fost urmată de cea în care semințele au fost tratate cu biopre-  
paratul pe bază de OS.17 + Previcur Energy 840 SL 50%, iar eficacitatea de combatere a  
31 ciupercii *P. debaryanum* a fost de 79%.

33 Produsele biologice utilizate în scopul combaterii ciupercii *Pythium debaryanum*, în  
combinație cu tratamentele chimice aplicate la sol, cu Previcur Energy 840 SL (s.a. 530 g  
propamocarb + 310 g fosetil/L), au determinat înregistrarea unor eficacități de combatere a  
35 bolii semnificative față de martorul netratat.

37 De asemenea, s-a evidențiat varianta în care semințele au fost tratate cu bioprepara-  
tul pe bază de OS.17 + Previcur Energy 840 SL 50%, valorile eficacității de combatere în  
39 această variantă fiind foarte apropiate de cele înregistrate în varianta martorului chimic.  
Rezultatele au indicat posibilitatea utilizării cu succes a dozelor reduse ale produsului chimic.

41 *Tabelul 2*

43 *Eficacitatea tratamentelor mixte, pe bază de biopreparate bacteriene condiționate sub  
formă de microemulsie și Previcur Energy 840 SL, în combaterea ciupercii Pythium  
debaryanum la plante de tomate, în condiții de cameră de creștere, la 24 °C (16 h zi),  
45 16 °C (8 h noapte) și 70% umiditate*

Varianta de tratament	Eficacitatea (%) (ABBOT)
V1 - OS.17 + Previcur Energy 840 SL 50%	79
V2 - OS.15 + Previcur Energy 840 SL 50%	11
V3 - Usa2 + Previcur Energy 840 SL 50%	78

Tabelul 2 (continuare)

Varianta de tratament	Eficacitatea (%) (ABBOT)
V4 - B49b + Previcur Energy 840 SL 50%	65
V5 - Bce2 + Previcur Energy 840 SL 50%	80
V6 - matorul chimic Previcur Energy 840 SL 100%	91
V 7 - matorul negativ (infectat, netratat)	0
V8 - matorul pozitiv (neinfectat)	100

### Exemplul 3

Eficacitatea combaterii ciupercii fitopatogene de sol *Rhizoctonia solani* tulpina DSM 63002, *in vivo*, în condiții de temperatură și umiditate controlate, s-a realizat prin aplicarea la semănat a unor tratamente mixte, bazate pe bioproduse bacteriene granulare, și tratamente chimice în doză redusă. Tulpina de *Rhizoctonia solani* DSM 63002 a fost împrăștiată pe mediul cartof glucoză agar (CGA). Inoculul fungic a fost produs pe substrat de orz (200 g semințe) distribuit în două plăci Roux. Plăcile au fost incubate la 20°C, timp de 3 săptămâni.

Tulpinile bacteriene selecționate, OS. 15; OS. 17; Bce2; Usa2 și B49, au fost cultivate pe mediul Luria Bertani, în vederea obținerii de biomasă necesară condiționării acestora sub formă de granule. Condiționarea acestora s-a realizat așa cum s-a precizat în exemplele 1 și 2. Experiența a cuprins 8 variante, după cum urmează: V1 - OS.17 + Topsin 500 SC 0,7%, V2 - OS15 + Topsin 500 SC 0,7%, V3 - Usa2 + Topsin 500 SC 0,7%, V4 - B49b + Topsin 500 SC 0,7%, V5 - Bce2 + Topsin 500 SC 0,7%, V6 - matorul chimic Topsin 500 SC 0,7% în doză de 10,14%, V 7 - matorul negativ (infectat, netratat), și V8 - matorul pozitiv (neinfectat). Fiecare variantă a avut 3 repetiții.

Materialul vegetal utilizat a fost reprezentat de semințe de tomate *Lycopersicon esculentum*, varietatea HEINZ 2274.

Biopreparatele bacteriene granulare cu o concentrație de  $10^9$  ufc/ml au fost aplicate pe rând, odată cu semănatul ( $33 \text{ g/m}^2$ ).

Inoculul fungic a fost aplicat în concentrație de 2%/kg sol, constând în biomasa de *Rhizoctonia solani* crescută pe substratul de semințe de orz. Tratamentele chimice au fost realizate la sol, prin distribuire uniformă pe întreaga suprafață, folosind produsul comercial Topsin 500 SC. În varianta matorului chimic a fost utilizată concentrația de 0,14%, recomandată de producător pentru combaterea rizoctoniozei la tomate. În variantele tratamentelor mixte biologice și chimice, s-a utilizat Topsin 500 SC în doză de 0,07%. După 4 săptămâni, sistemul radicular al plantelor, coletul și tulpinițele au fost analizate în ceea ce privește simptomele caracteristice. Plantele care nu au prezentat niciun simptom caracteristic bolii au fost considerate sănătoase. Experiența a fost repetată de 3 ori.

Analiza rezultatelor experiențelor efectuate *in vivo*, în condiții de cameră de creștere, în ceea ce privește eficacitatea tratamentelor mixte cu Topsin 500 SC 0,7% + biopreparatele bacteriene ( $10^9$  ufc/ml), în combaterea ciupercii *R. solani* la cultura de tomate, a reflectat următoarele (tabelul 3):

- cea mai mare eficacitate % (ABBOTT) s-a înregistrat în variantele în care semințele au fost tratate cu biopreparate granulare pe bază de *B. subtilis* B49b + Topsin 500 SC 0,7%, și *B. amiloliquefaciens* OS17 + Topsin 500 SC 0,7% (în ambele variante E = 100%), acestea fiind urmate de varianta în care semințele au fost tratate cu preparatul pe bază de *B. subtilis* OS15 + Topsin 500 SC 0,7% (E = 92%);

# RO 129511 B1

1 - rezultatele au evidențiat că, în majoritatea variantelor în care s-a utilizat 1/2 din doza  
produsului chimic în combinație cu produsele biologice, eficacitatea de combatere a bolii a  
3 fost semnificativ mai mare decât în varianta martorului chimic.

5 *Tabelul 3*

7 *Eficacitatea tratamentelor mixte, pe bază de biopreparate bacteriene condiționate sub*  
9 *formă de granule ( $10^9$  ufc/ml) și Topsin 500 SC 0,07%, în combaterea ciupercii*  
*Rhizoctonia solani la plante de tomate, în condiții de cameră de creștere,*  
*la 24 °C (16 h zi), 16 °C (8 h noapte) și 70% umiditate*

Varianta de tratament	Eficacitatea (%) (ABBOT)
V1 - OS. 17 + Topsin 500 SC 0,7%	100
V2 - OS15 +Topsin 500 SC 0,7%	92
V3 - Usa2 + Topsin 500 SC 0,7%	91
V4 - B49b + Topsin 500 SC 0,7%	100
V5-Bce2 + Topsin 500 SC 0,7%	87
V6 - martorul chimic Topsin 500 SC 0,14%	90
V 7 - martorul negativ (infectat, netratat)	0
V8 - martorul pozitiv (neinfectat)	100

19 Testele efectuate *in vivo* au reflectat faptul că utilizarea concomitentă a tratamentelor  
21 chimice, aplicate la % din doză, și a celor biologice au determinat eficacități mai mari decât  
în variantele martorului chimic, ceea ce demonstrează că aplicarea acestor tratamente mixte  
23 poate contribui semnificativ la combaterea ciupercilor fitopatogene de sol și, nu în ultimul  
rând, la reducerea poluării mediului și a alimentului cu substanțe chimice.



# RO 129511 B1

## Revendicare

1

Metodă pentru combaterea ciupercilor fitopatogene de sol, *Fusarium oxysporum f. sp. radicis lycopersici*, *Pythium debarianum* și *Rhizoctonia solani*, care determină putregaiul rădăcinii și al coletului răsadurilor de tomate, prin utilizarea simultană a unor biopreparate granulare pe bază de tulpini de *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, în concentrație de  $10^9$  ufc/ml, și a unor produse chimice pe bază de tiofanat metal și pro-pamocarb + fosetil. 3 5 7



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM  
Tipărit la: Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci  
sub comanda nr. 440/2017