



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2011 01332**

(22) Data de depozit: **07/12/2011**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **29/07/2016** BOPI nr. **7/2016**

(41) Data publicării cererii:
30/07/2013 BOPI nr. **7/2013**

(73) Titular:
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
TEHNOLOGII CRIOGENICE ȘI IZOTOPICE
- ICSI RÂMNICU VÂLCEA, STR.UZINEI
NR.4, OP RĂURENI, CP.7,
RÂMNICU VÂLCEA, VL, RO**

(72) Inventatori:
• **ȘTEFĂNESCU IOAN,
BD.NICOLAE BĂLCESCU NR.4,
RÂMNICU VÂLCEA, VL, RO;**

• **BUTNARU GALLIA,
STR. L.VAN BEETHOVEN NR. 4, AP. 10,
TIMIȘOARA, TM, RO;**
• **ARDELEAN AUREL,
SPLAIUL TOTH SANDOR NR. 6/B, ARAD,
AR, RO;**
• **GAVRILITA LIDIA, STR. NICOLAE
COSTIN NR. 63/2, AP. 145, CHIȘINĂU, MD,
MD;**
• **MLADIN CRISTIAN,
STR. DR. ION GHIULAMILA NR. 6,
SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **TITESCU GHEORGHE,
STR. MATEI BASARAB NR. 20, BL.116,
SC.C, AP. 1, RÂMNICU VÂLCEA, VL, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
MD 1974 F1; MD 1958 F1

(54) **PROCEDEU DE ÎNMULȚIRE A ENTOMOFAGULUI
TRICHOGRAMMA SPP.**



RO 128590 B1

1 Inventția se referă la un procedeu de înmulțire a entomofagului *Trichogramma spp.*
cu utilizare în agricultură, pentru protecția biologică a plantelor.

3 Se cunoaște un procedeu de înmulțire în masă a *Trichogramma spp.* pe ouă proas-
pete de molia cerealieră *Sitotroga cerealella* O. în vârstă de 24...28 h, la temperatura de
5 23...25°C și umiditatea relativă a aerului de 75...85% (Abașchin A., Grinberg A. - **Îndrumător pentru înmulțirea în masă și aplicarea *Trichogramma*, Moscova 1979, pp. 35-45).**
7 De asemenea, sunt cunoscute alte două procedee de înmulțire în masă a entomofagului
Trichogramma spp., care includ înmulțirea lui pe ouă de molie cerealieră *Sitotroga cerealella*
9 O. la temperatura de 23...25°C și umiditatea relativă a aerului de 75...85%, folosind pentru
înmulțire ouă în vârstă de 46...48 h, iradiate preliminar cu raze gama în doză de
11 200...300 Gy, sau în vârstă de 70...72 h, iradiate preliminar cu raze gama în doză de
350...650 Gy (MD 1958 F1 2002.07.31), respectiv, ouă în vârstă de 20...26 h, prelucrate
13 preliminar cu fluid magnetic de Fe₃O₄ în doză de 10...200 μL/L (MD 1974 F1 2002. 08. 31).
Dezavantajul primului procedeu constă în faptul că, în condiții de laborator *ex situ*, înmulțirea
15 de durată, câteva generații succesive (peste șase), duce la scăderea eficienței de parazitare
a oofagului, având loc diminuarea indicilor biologici (prolificitatea, proporția femelelor din
17 populație, capacitatea de eclozare) și de migrație/motilitate a oofagului în condiții de câmp.
Dezavantajul celorlalte două procedee constă în faptul că, pentru tratarea preventivă a
19 ouălor de molie cerealieră, se folosesc tehnici complexe - iradiere gama, preparare și dozare
de fluide magnetice - tehnici care impun un înalt grad de calificare a personalului, implicarea
21 unor instalații și echipamente de precizie atât pentru iradiere, cât și pentru preparare - dozare
fluide magnetice sau, în cazul iradierii, măsuri stricte de control al surselor/instalațiilor de
23 iradiere, și măsuri speciale de radioprotecție personal.

Prezenta invenție rezolvă problemele legate de înmulțirea *ex situ* pe ouăle gazdei
25 *Sitotroga cerealella* O., cum sunt sporirea numărului de indivizi din populațiile de
Trichogramma, amplificarea parametrilor biologici și de calitate ai oofagului, ceea ce contri-
27 buie la eficientizarea combaterii biologice a lepidopterelor din horticultură și agricultură, în
principal combaterea sfredelitorului porumbului - *Ostrinia nubilalis* HB.

29 Procedeu conform invenției înlătură dezavantajele menționate mai sus prin aceea
că ouăle de molia cerealelor *Sitotroga cerealella* O. sunt pretratate timp de 5 min cu apă
31 sărăcită în deuteriu DDW, de concentrație izotopică 25±5 ppm D/(D + H).

Prin aplicarea invenției se obține avantajul că *Trichogramma spp.* dezvoltată pe ouă
33 de molie cerealieră, pretratate cu apă sărăcită în deuteriu DDW (deuterium depleted water),
are indicii biologici mai mari decât pe ouă netratate, ceea ce se explică prin proprietățile
35 bioactive ale fluidului. Apa sărăcită în deuteriu este un produs alimentar obținut din apă
naturală, are calitatea apei potabile, în procedeu fiind utilizată ca atare, și nu sunt necesare
37 condiții speciale de control, dozare, manipulare sau de protecție fizică a personalului.

Se dă, în continuare, un exemplu de realizare a procedurii de înmulțire a entomo-
39 fagului *Trichogramma spp.* în legătură și cu figura ce reprezintă "Criteriul static al calității"
(Y1), al unor linii de *Trichogramma evanescens* - porumb colectate în 2009 din cinci eco-
41 sisteme diferite, al căror ciclu de viață a avut loc în ouă de molia cerealelor pretratate cu
DDW (timp de trei generații).

43 Inventția constă în înmulțirea entomofagului *Trichogramma spp.* pe ouă de molia
cerealelor pretratate cu apă sărăcită în deuteriu (DDW), în etapa de înmulțire în masă, utili-
45 zând ouă proaspete de molia cerealelor (depușe la intervalul de 20...26 h), pretratate cu apă
sărăcită în deuteriu (DDW), timp de 5 min. Înmulțirea în masă a oofagului *Trichogramma spp.*
47 are loc la temperatura de 23...25°C și la o umiditate relativă a aerului de 75...85%.

RO 128590 B1

Într-o primă etapă, sunt colectate ouăle de gazdă *Sitotroga cerealella* O., în vârstă de 20...26 h. În a doua etapă, se efectuează pretratarea ouălor de *Sitotroga* cu apă sărăcită în deuteriu DDW, timp de 5 min. În a treia etapă, este pregătită specia de *Trichogramma* pentru parazitarea ouălor gazdă. În a patra etapă, are loc înmulțirea în masă a formei de *Trichogramma* pe ouă de molia cerealelor pretratate cu apă sărăcită în deuteriu DDW. În a cincea etapă, sunt determinați indicii biologici ai populației de *Trichogramma*, precum prolificitatea (ouă/femelă), procentul de ecloziune a indivizilor (femele și masculi) și procentul de femele eclozate. Temperatura de incubație și de creștere a *Trichogrammei* în ouă pretratate cu DDW trebuie să fie de 24...25°C, cu o umiditate relativă a aerului de 80...85%.

Rezultatele au la bază două experiențe în care materialul biologic utilizat a fost de origine diferită, România și Republica Moldova, și demonstrează superioritatea indicilor biologici în cazul în care procedeul propus este utilizat.

La ecotipurile de *Trichogramma evanescens* din România și R. Moldova care s-au dezvoltat pe ouă de molia cerealelor pretratate cu apă sărăcită în deuteriu DDW, capacitatea de eclozare (α_1) a fost superioară cu 11,4%, respectiv, 10,0%, proporția dintre sexe de 1:1 (α_2 ; femele:masculi) a fost modificată în favoarea femelelor (21,2%, respectiv, 10,9%), indicii biologici esențiali au fost superiori comparativ cu lotul obținut prin tehnologia clasică (ouă care nu au fost pretratate cu DDW). Efectul se datorează stimulării proceselor biologice, potențării tuturor funcțiilor organismului, crescută a organismelor tratate, și schimbărilor fizico-chimice la nivelul membranelor, care duc la o vitalitate crescută a organismelor tratate.

Tabelul 1

Date comparative, privind indicii biologici ai ecotipurilor de *Trichogramma* spp. din România, înmulțite pe ouă de *Sitotroga cerealella* O. netratate și pretratate cu apă sărăcită în deuteriu DDW

Specii de <i>Trichogramma</i> , ecotip	Modul de prelucrare a ouălor de <i>Sitotroga cerealella</i>	Prolificitatea ouă/1 femelă (P_1)	Ecloziunea indivizilor (α_1), %	Ecloziune a femelelor (α_2), %	Criteriul static al calității (Y_1)
<i>T. evanescens</i> ecotipul Rovinari	netratate (control - C)	18,0±0,6	79,0±2,1	52±1,2	7,3±0,4
	pretratate cu DDW	26,0±1,0	88,0±2,5	63±1,4	14,4±1,0
	Diferența % față de C	+44,4%	+11,4	+21,2	+97,3
<i>T. pintoii</i> , ecotipul Rovinari	netratate (control - C)	20,0±1,0	72,0±2,0	51±1,1	7,4±0,3
	pretratate cu DDW	29,0±1,5	80,0±2,4	55±1,0	12,7±1,1
	Diferența % față de C	+45,0	+11,1	+7,8	+71,6

RO 128590 B1

Tabelul 2

Date comparative privind indicii biologici ai *Trichogramma* spp., ecotipuri din R. Moldova înmulțite pe ouă de *Sitotroga cerealella* O. netratate și pretratate cu apă sărăcită în deuteriu DDW

Specii de <i>Trichogramma</i> , ecotip	Modul de prelucrare a ouălor de <i>Sitotroga cerealella</i>	Prolificitatea ouă/1 femelă (P_1)	Ecloziunea indivizilor (α_1), %	Ecloziune a femelelor (α_2), %	Criteriul static al calității (Y_1)
<i>T. evanescens</i> ecotipul Chișinău	netratate (control - C)	19,5±1,2	80,0±2,1	55±1,2	8,5±0,2
	pretratate cu DDW	29,3±1,7	88,0±2,6	61±1,7	15,7±0,6
	Diferența % față de C	+50,3	+10,0	+10,9	+84,7
<i>T. pintoii</i> ecotipul Chișinău	netratate (control - C)	19,6±1,1	82,0±2,2	58±1,6	9,3±0,3
	pretratate cu DDW	30,5±1,9	88,0±2,8	62±1,3	16,6±0,7
	Diferența % față de C	+55,6	+7,3	+6,9	+78,5

Tabelul 3

Capacitatea de migrare în câmp a indivizilor *Trichogramma evanescens* W., determinată prin evaluarea procentului de ouă de *Sitotroga cerealella* parazitare (cultura porumbului, Timișoara, 2010)

Nr. crt	<i>T. evanescens</i> , ecotipul de:	Proveniența adulților lansați în câmp	Distanța (m) de la punctul de lansare				
			3 m	6 m	9 m	12 m	X_{3-12m}
			$x \pm sx$	$x \pm sx$	$x \pm sx$	$x \pm sx$	$x \pm sx$
1	Timișoara	Control	56,89±1,44	49,22±1,86	29,33±1,93	12,56±1,93	37,00±8,66
		DDW	68,33±2,50	61,89±2,09	42,11±1,53	20,22±3,01	48,14±9,40
Diferența DDW - Control			+11,44±3,94	+12,67±3,95	+12,78±3,46	+7,66±4,94	+11,14±1,04
Gradul de acoperire %			20,1	25,7	43,6	61,0	30,1
3	Rovinari	Control	53,00 ±1,32	43,22±1,38	30,11±1,49	11,00±0,44	34,33±7,86
		DDW	77,22 ±1,39	66,56±0,80	39,56±1,12	19,33±0,63	50,67±11,36
Diferența DDW - Control			+24,22 ±2,71	+23,34±2,18	+9,45±2,61	+8,33±1,07	+16,34±3,73
Gradul de acoperire%			45,7	54,0	31,4	75,7	47,6

RO 128590 B1

Indicii biologici relevați de indivizii de <i>Trichogramma evanescens</i> W. și <i>T. pintoii</i> V., crescuți pe ouă de molia cerealelor tratate cu apă sărăcită în deuteriu DDW, sunt superiori față de cei obținuți în varianta control (C - indivizii oofagului obținuți din ouă de <i>Sitotroga cerealella</i> netratate cu DDW).	1 3
În cazul speciilor <i>T. evanescens</i> W. și <i>T. pintoii</i> V, populații originare din România, ecosistemul Rovinari, prolificitatea (P_1) a crescut de 1,44, respectiv, 1,45 ori; ecloziunea indivizilor (femele și masculi; α_1) s-a diferențiat cu +11,4%, respectiv, +11,1%; ecloziunea femelelor (α_2) s-a îmbunătățit cu +21,2%, respectiv, +7,8%, și criteriul static al calității (Y_1) a fost cu +97,3%, respectiv, +71,6% mai mare comparativ cu cel calculat la indivizii din varianta control, la trei indicatori de calitate, fiind superiori matorului de 1,71...1,97 ori.	5 7 9
Rezultate asemănătoare au fost obținute și în cazul ecotipurilor din R. Moldova, Chișinău, la speciile <i>Trichogramma evanescens</i> W. și <i>T. pintoii</i> V. Astfel, prolificitatea (P_1) este mai ridicată de 1,50, respectiv, 1,55 ori, ecloziunea indivizilor (femele și masculi; α_1) a fost îmbunătățită cu +10,0%, respectiv, +7,3%, iar în populația eclozată numărul femelelor (α_2) a crescut cu +10,9% și, respectiv, cu +6,9% și, în final, valorile „criteriului static al calității” (Y_1) s-a diferențiat față de control cu 84,7% și, respectiv, 78,5%.	11 13 15
La ambele ecotipuri, de Timișoara și de Rovinari, indivizii de <i>Trichogramma evanescens</i> W eclozați din ouă de <i>Sitotroga cerealella</i> O. pretratate cu DDW au avut o motilitate mai bună, acoperind o arie cultivată cu porumb mai mare cu 30,1%, respectiv, cu 47,6%.	17 19
Rezultatul invenției constă în aceea că populațiile de <i>Trichogramma evanescens</i> W. și <i>T. pintoii</i> V., provenite atât din România, cât și din Republica Moldova, au evoluat și au crescut în ouă proaspete de <i>Sitotroga cerealella</i> cu vârsta de 20...26 h, pretratate cu apă sărăcită în deuteriu (DDW), timp de 5 min.	21 23
Apa sărăcită în deuteriu influențează pozitiv indicii biologici ai entomofagului <i>Trichogramma spp.</i> , dar cele mai semnificative îmbunătățiri au fost stabilite prin calculul criteriului static al calității (Y_1) și evaluarea motilității în câmp a indivizilor.	25 27
Îmbunătățirea criteriului static al calității (Y_1) asigură randament superior în valorificarea ouălor de molia cerealelor cu 15...20%.	29
Motilitatea în câmp evidențiază capacitatea de a controla ponta lepidopterelor pe o arie mai mare, ceea ce se exprimă în lansarea unui număr mai mic de indivizi la unitatea de suprafață.	31

RO 128590 B1

1

Revendicare

3

Procedeu de înmulțire a entomofagului *Trichogramma spp.*, **caracterizat prin aceea**
că se realizează printr-o înmulțire a entomofagului pe ouă de molia cerealelor *Sitotroga*
***cerealella* O.**, cu vârsta de 20...26 h, pretratate timp de 5 min cu apă săracită în deuteriu

5

DDW, la o temperatură de 23...25°C și o umiditate relativă a aerului de 75...85%.

