



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2012 00971

(22) Data de depozit: 07.12.2012

(41) Data publicării cererii:
30.06.2014 BOPI nr. 6/2014

(71) Solicitant:
• 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 1,
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

(54) METODĂ PENTRU COMBATEREA CIUPERCILOR
FITOPATOGENE DE SOL DIN CULTURA DE TOMATE PRIN
TRATAMENTE MIXTE LA SĂMÂNȚA CU BIOPREPARATE
BACTERIENE ȘI PRODUSE

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o metodă pentru combaterea unor ciuperci fitopatogene de sol, din culturi de tomate. Metoda conform invenției constă din aplicarea simultană, odată cu semănatul, a 33 g/mp biopreparate granulare, cu eliberare treptată a microorganismelor din speciile *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* și

Bacillus pumilus, având o concentrație de 10^9 ufc/ml, și produse chimice cunoscute în tehnică, aplicate la jumătate din doza uzuală.

Revendicări: 4



Alte cercetari se refera la utilizarea unor tulpini de ciuperci nepatogene de *Gliocladium virens* cu calitati de agent de combatere a ciupercii *Rhizoctonia solani*, care determina putregaiul radacinii plantelor de mazare in camp, in amestec cu fungicide care au ca substanta activa tiram (Hwang & Chakravarty, 1992).

Yildiz si colab. au publicat in 2007 o lucrare in care prezinta efectele tratamentelor biologice, pe baza de tulpini de *P. fluorescens* si chimice cu fenhexamid in combaterea putregaiului cenusiu al tomatelor cultivate in sera, concluzionand ca aceste tratamente au redus semnificativ aparitia bolii fata de varianta martorului chimic.

Brevetul US 5,215,747 prezinta o compozitie mixta de endospori de *Bacillus subtilis* si cel putin un fungicid chimic care este eficace in combaterea uneia sau a mai multor ciuperci fitopatogene din ordinul Peronosporales precum si din clasa Bazidiomicetelor si cea a Deuteromicetelor. Inventia subliniaza eficacitatea crescuta a compozitiei mixte in combaterea fitopatogenilor studiati comparativ cu martorul chimic.

Problema tehnica pe care o rezolva inventia consta intr-o metoda de combatere a ciupercilor fitopatogene de sol din cultura de tomate, care permite reducerea dozelor de fungicide recomandate si in acelasi timp asigura o mai buna eficacitate de combatere.

Exemplul 1: Eficacitatea combaterii ciupercii fitopatogene de sol *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* (Forl), *in vivo* in conditii de temperatura si umiditate controlate, s-a realizat prin aplicarea la semanat a unor tratamente mixte bazate pe bioproduse bacteriene granulare si tratamente chimice în doză redusă.

Tulpinile bacteriene au fost conditionate sub forma de granule cu eliberare treptata a microorganismelor si au apartinut speciilor: *Bacillus subtilis* – tulpinile Usa2 (DSMZ 23654), B49b (NCAIM (P) B001360; GenBank EU334511) si Bce2 (NCAIM (P) B001361); GenBank EU334512) ; *Bacillus amyloliquefaciens* – OS17 si *Bacillus pumilus* - OS15. Acestea au fost izolate, caracterizate si selectate in cadrul laboratorului de bacteriologie din ICDPP si sunt depuse sau in curs de depozitare la autoritati de depozit internationale, cum ar fi NCAIM Budapesta si DSMZ Germania.

Conditionarea sub forma de granule s-a realizat pe baza metodelor descrise de Fravel si colab. in 1985 si Minaxi si colab. in anul 2011. Succint, pentru conditionare au fost utilizate urmatoarele materii prime: tampon fosfat salin steril, alginat de sodiu 2%, clorura de calciu 2% si solutie salina sterila 0,8%. La alginatul de sodiu 2% steril s-au aditionat 20 ml suspensie bacteriana 10^8 ufc/ml apoi amestecul s-a omogenizat cca 15 minute. Suspensia obtinuta a fost picurata in solutie CaCl_2 2%. Granulele au fost lasate timp de o ora in solutia de CaCl_2 , apoi s-au spalat de trei ori cu solutie salina sterila, surplusul de umiditate fiind indepartat. Biopreparatele granulare s-au pastrat in Petriuri sterile la 4 °C.

Experienta *in vivo* privind eficacitatea combaterii ciupercii fitopatogene de sol *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* (Forl, tulpina Zum2407, IPO-DLO Wageningen) a cuprins 8 variante, dupa cum urmeaza: V1-OS.17 + TOPSIN®500sc 0,07%, 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 TOPSIN®500sc in doza de 0,14%, V 7- martorul negativ (infectat, netratat) si V8- martorul pozitiv (neinfectat).

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

Biopreparatele bacteriene granulare cu o concentratie de 10^9 ufc/ml au fost aplicate pe rand odata cu semanatul ($33\text{g}/\text{m}^2$).

Inoculul fungic a constat in spori de Forl in concentratie de 2×10^6 spori/ kg sol.

Tratamentele chimice au fost realizate la sol, prin distribuire uniforma pe intreaga suprafata, folosind produsul comercial TOPSIN 500SC. În varianta martorului chimic a fost utilizată concentratia de 0,14%, recomandată de producător pentru combaterea fuzariozei la tomate.

În variantele tratamentelor mixte, biologice si chimice s-a utilizat TOPSIN 500SC in doza de 0,07%.

Dupa 4 saptamani, sistemul radicular al plantelor si coletul au fost analizate in ceea ce priveste simptomele caracteristice si anume pete brune si portiuni putrezite. Plantele care nu au prezentat nici un simptom caracteristic bolii au fost considerate sanatoase. Experienta a fost repetata de 3 ori.

Rezultatele au evidenciat o eficacitate mare de combatere a fuzariozei tomatelor in varianta tratata cu biopreparatul pe baza de *B. subtilis* OS.15 si Topsis 500SC in doza de 0,07%, de 96% (tabel 1). In aceasta variant de tratament, comparativ cu celelalte variante dar si fata de martorul chimic, Topsis 500SC 0,14% (E= 69%), valoarea eficacitatii a fost semnificativ mai mare.

Tabel 1 - Eficacitatea tratamentelor mixte pe baza de biopreparate bacteriene granulare si Topsis 500SC 0,07% în combaterea putregaiului radacinii si coletului (*F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*) la plante de tomate în condiții de camera de crestere, la 24°C (16 ore zi), 16°C (8 ore noapte) și 70% umiditate.

Varianta tratament	% plante sănătoase răsărite	Eficacitatea (%) (ABBOT)
V1-OS.17 + TOPSIN®500sc 0,07%	98	90
V2-OS15+ 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 tratata cu OS.15 si Topsis 500SC 0,07% (E= 96%) a fost urmata de varianta in care plantele au fost tratate cu OS.17 si Topsis 500SC 0,07% (E= 90%).

Rezultatele au evidentiat eficacitatea sporita a tratamentelor mixte, biologice si chimice, comparativ cu valorile eficacitatii din varianta in care plantele au fost tratate numai cu produsul chimic Topsin 500SC, chiar daca doza a fost de 2 ori mai mare (0,14%) decat cea din variantele cu tratamente combinate. De asemenea, experimentele au demonstrat faptul ca produsele microbiologice aplicate simultan cu cele chimice au contribuit semnificativ la reducerea cantitatii de inocul fungic din sol si implicit la protectia plantelor fata de *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*.

Exemplul 2: Eficacitatea combaterii *in vivo* a ciupercii fitopatogene de sol *Pythium debaryanum* tulpina DSM 62946, in conditii de temperatura si umiditate controlate, s-a realizat prin aplicarea la semanat a unor tratamente mixte bazate pe bioproduse bacteriene granulare si tratamente chimice în doză redusă. Tulpina de *Pythium debaryanum* DSM 62946 a fost improspatata pe mediul cartof glucoza agar (CGA). Inoculul fungic a fost produs pe substrat de orz (200g semințe) distribuit in doua placi Roux. Placile au fost incubate la 20°C, timp de 3 saptamani.

Tulpinile bacteriene selectate, OS.15; OS.17; Bce2; Usa2 si B49, au fost cultivate pe mediul Luria Bertani in vederea obtinerii de biomasa necesara conditionarii acestora sub forma de granule. Conditionarea acestora s-a realizat asa cum s-a precizat in exemplul 1. Experienta *in vivo* in care a fost studiată eficacitatea tratamentelor mixte in combaterea ciupercii fitopatogene de sol *Pythium debaryanum*, a cuprins 8 variante, dupa cum urmeaza: V1-OS.17 + Previcur Energy 840 SL50%, V2-OS15+ Previcur Energy 840 SL50%, V3- Usa2 + Previcur Energy 840 SL50%, V4- B49b+ Previcur Energy 840 SL50%, V5- Bce2 + Previcur Energy 840 SL50%, V6 - martorul chimic Previcur Energy 840 SLin doza de 100%, V7- martorul negativ (infectat, netratat) si V8- martorul pozitiv (neinfectat). Fiecare varianta a avut 3 repetitii.

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

Biopreparatele bacteriene granulare cu o concentratie de 10^9 ufc/ml au fost aplicate pe rand odata cu semanatul (33g/m²).

Inoculul fungic a fost aplicat in concentratie de 2%/ kg sol, constand in biomasa de *Pythium debaryanum* crescuta pe substratul de seminte de orz. Tratamentele chimice au fost realizate la sol, prin distribuire uniforma pe intreaga suprafata, folosind produsul comercial Previcur Energy 840SL. În varianta martorului chimic a fost utilizată concentratia de 100%, recomandată de producător pentru combaterea caderii plantutelor de tomate. În variantele tratamentelor mixte biologice si chimice s-a utilizat Previcur Energy 840 SLin doza de 50%.

Dupa 4 saptamani, sistemul radicular al plantelor, coletul si tulpinile au fost analizate in ceea ce priveste simptomele caracteristice si anume pete brune, portiuni putrezite si plante colapsate ca urmare a putregaiului. Plantele care nu au prezentat nici un simptom caracteristic bolii au fost considerate sanatoase. Experienta a fost repetata de 3 ori.

Rezultatele au evidentiat varianta in care semintele au fost tratate cu biopreparatul pe baza de *B. subtilis* tulpina Bce2 iar solul cu Previcur Energy 840 SL50%, iar eficacitatea a fost de 80%, aceasta valoare fiind foarte apropiata de cea realizata in varianta martorului chimic (91%) (tabel 2).

Aceasta varianta a fost urmata de cea in care semintele au fost tratate cu biopreparatul pe baza de OS.17 + Previcur Energy 840 SL50% iar eficacitatea de combatere a ciupercii *P. debaryanum* a fost de 79%.

Produsele biologice utilizate in scopul combaterii ciupercii *Pythium debaryanum* in combinatie cu tratamentele chimice aplicate la sol cu Previcur Energy 840 SL(s.a. 530g propamocarb + 310g fosetil / L) au determinat inregistrarea unor eficacitati de combatere a bolii semnificative fata de martorul netratat.

Totodata, in varianta in care semintele au fost tratate cu biopreparatul pe baza de OS.17 + Previcur Energy 840 SL50% valorile eficacitatii de combatere au fost foarte apropiate de cea inregistrata in varianta martorului chimic, ceea ce indica posibilitatea utilizarii cu succes a dozelor reduse ale produsului chimic.

Tabel 2: Eficacitatea tratamentelor mixte pe baza de biopreparate bacteriene conditionate sub forma de microemulsie si Previcur Energy 840 SL in combaterea ciupercii *Pythium debaryanum* la plante de tomate in conditii de camera de crestere, la 24°C (16 ore zi), 16°C (8 ore noapte) și 70% umiditate.

Varianta tratament	Eficacitatea (%) (ABBOT)
V1-OS.17 + Previcur Energy 840 SL50%	79
V2-OS15+ Previcur Energy 840 SL50%	77
V3- Usa2 + Previcur Energy 840 SL50%	78
V4- B49b + Previcur Energy 840 SL50%	65
V5- Bce2 + Previcur Energy 840 SL50%	80
V6 - martorul chimic Previcur Energy 840 SL100%	91
V 7- martorul negativ (infectat, netratat)	0
V8- martorul pozitiv (neinfectat)	100

Exemplul 3: Eficacitatea combaterii ciupercii fitopatogene de sol *Rhizoctonia solani* tulpina DSM 63002, *in vivo*, in conditii de temperatura si umiditate controlate, s-a realizat prin aplicarea la semanat a unor tratamente mixte bazate pe bioproduse bacteriene granulare si tratamente chimice in doză redusă. Tulpina de *Rhizoctonia solani* DSM 63002 a fost improspatata pe mediul cartof glucoza agar (CGA). Inoculul fungic a fost produs pe substrat de orz (200g semințe) distribuit in doua placi Roux. Placile au fost incubate la 20°C, timp de 3 saptamani.

Tulpinile bacteriene selectate, OS.15; OS.17; Bce2; Usa2 si B49, au fost cultivate pe mediul Luria Bertani in vederea obtinerii de biomasa necesara conditionarii acestora sub forma de granule. Conditionarea acestora s-a realizat asa cum s-a precizat in exemplul 1 si 2. Experienta a cuprins 8 variante, dupa cum urmeaza: V1-OS.17 + Topsin 500SC 0,7%, V2-OS15+ Topsin 500SC 0,7%, V3- Usa2 + Topsin 500SC 0,7%, V4- B49b+ Topsin 500SC 0,7%, V5- Bce2 + Topsin 500SC 0,7%, V6 - martorul

chimic Topsin 500SC 0,7% in doza de 10,14 %, V 7- martorul negativ (infectat, netratat) si V8- martorul pozitiv (neinfectat). Fiecare varianta a avut 3 repetitii.

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

Biopreparatele bacteriene granulare cu o concentratie de 10^9 ufc/ml au fost aplicate pe rand odata cu semanatul (33g/m^2).

Inoculul fungic a fost aplicat in concentratie de 2%/ kg sol, constand in biomasa de *Rhizoctonia solani* crescuta pe substratul de seminte de orz. Tratamentele chimice au fost realizate la sol, prin distribuire uniforma pe intreaga suprafata, folosind produsul comercial Topsin 500SC. În varianta martorului chimic a fost utilizată concentratia de 0,14%, recomandată de producător pentru combaterea rizoctoniozei la tomate. În variantele tratamentelor mixte biologice si chimice s-a utilizat Topsin 500SC in doza de 0,07%. Dupa 4 saptamani, sistemul radicular al plantelor, coletul si tulpinile au fost analizate in ceea ce priveste simptomele caracteristice. Plantele care nu au prezentat nici un simptom caracteristic bolii au fost considerate sanatoase. Experienta a fost repetata de 3 ori.

Analiza rezultatelor experientelor efectuate *in vivo*, in conditii de camera de crestere, in ceea ce priveste eficacitatea tratamentelor mixte cu Topsin 500SC 0,7% + biopreparatele bacteriene (10^9 ufc/ml) in combaterea ciupercii *R. solani* la cultura de tomate a reflectat urmatoarele (tabel 3):

- Cea mai mare eficacitate % (ABOTT) s-a inregistrat in variantele in care semintele au fost tratate cu biopreparate granulare pe baza de *B. subtilis* B49b +Topsin 500SC 0,7% si *B. amiloliquefaciens* OS17 + Topsin 500SC 0,7% (in ambele variante E=100%) , acestea fiind urmate de varianta in care semintele au fost tratate cu preparatul pe baza de *B.subtilis* OS15 +Topsin 500SC 0,7% (E=92%);
- Rezultatele au evidentiat ca in majoritatea variantelor in care s-a utilizat $\frac{1}{2}$ din doza produsului chimic in combinatie cu produsele biologice, eficacitatea de combatere a bolii a fost semnificativ mai mare decat in varianta martorului chimic.

Tabel 3: Eficacitatea tratamentelor mixte pe baza de biopreparate bacteriene conditionate sub forma de granule (10^9 ufc/ml) si Topsin 500SC 0,07% în combaterea ciupercii *Rhizoctonia solani* la plante de tomate în condiții de camera de crestere, la 24°C (16 ore zi), 16°C (8 ore noapte) și 70% umiditate.

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

V 7- matorul negativ (infectat, netratat)	0
V8- matorul pozitiv (neinfectat)	100

Testele efectuate *in vivo* au reflectat faptul ca utilizarea concomitenta a tratamentelor chimice, aplicate la ½ din doza, si a celor biologice au determinat eficacitati mai mari decat in variantele matorului chimic, ceea ce demonstreaza ca aplicarea acestor tratamente mixte, poate contribui semnificativ la combaterea ciupercilor fitopatogene de sol si nu in ultimul rand la reducerea poluarii mediului si a alimentului cu substante chimice.

METODA PENTRU COMBATEREA CIUPERCILOR FITOPATOGENE DE SOL DIN CULTURA DE TOMATE PRIN TRATAMENTE MIXTE LA SAMANTA CU BIOPREPARATE BACTERIENE SI PRODUSE CHIMICE

Rezumat

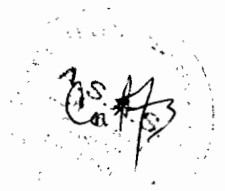
Inventia se refera la o metoda noua destinata combaterii ciupercilor fitopatogene de sol care determina putregaiul radacinii si al coletului rasadurilor de tomate. Noutatea inventiei consta in utilizarea simultana a unor biopreparate pe baza de tulpini bacteriene autohtone, selectionate, si a unor produse chimice destinate combaterii fitopatogenilor de sol aplicate in doza redusa.

AVANTAJELE INVENTIEI

Noua metoda destinata combaterii ciupercilor fitopatogene de sol care determina putregaiul radacinii si al coletului rasadurilor de tomate consta in utilizarea simultana a unor biopreparate pe baza de tulpini bacteriene autohtone, selectionate, si a unor produse chimice destinate combaterii fitopatogenilor de sol aplicate in doza redusa.

Tulpinile care au stat la baza realizarii biopreparatelor utilizate in prezentul studiu, au fost izolate, caracterizate si selectionate in cadrul laboratorului de bacteriologie din ICDPP si s-au identificat pe baza secventei 16S rARN si cu sistemul BIOLOG. Tulpinile bacteriene au fost conditionate sub forma de granule cu eliberare treptata a microorganismelor si au apartinut speciilor: *Bacillus subtilis* – tulpinile Usa2 (DSMZ 23654), B49b (NCAIM (P) B001360; GenBank EU334511) si Bce2 (NCAIM (P) B001361); GenBank EU334512) ; *Bacillus amyloliquefaciens* – OS17 si *Bacillus pumilus* - OS15.

Rezultatele au evidentiat o eficacitate mare de combatere a fuzariozei tomatelor in varianta tratata cu biopreparatul pe baza de *B. subtilis* OS.15 si Topsin 500SC in doza de 0,07% (E=96%). In aceasta



varianta, comparativ cu celelalte variante de tratament dar si fata de martorul chimic, Topsin 500SC 0,14% (E= 69%), valoarea eficacitatii a avut valori cu mult mai mari. Rezultatele au evidentiat eficacitatea sporita a tratamentelor mixte comparativ cu valorile eficacitatii din varianta in care plantele au fost tratate numai cu produsul chimic Topsin 500SC, chiar daca doza a fost de 2 ori mai mare (0,14%) decat cea din variantele cu tratamente combinate.

In experimentele privind combaterea ciupercii fitopatogene de sol *Pythium debaryanum* tulpina DSM 62946, *in vivo*, in conditii de temperatura si umiditate controlate, rezultatele au evidentiat varianta in care semintele au fost tratate cu biopreparatul pe baza de *B. subtilis* tulpina Bce2 iar solul cu Previcur Energy 840 SL50%, in care eficacitatea a fost de 80%, aceasta valoare fiind foarte apropiata de cea realizata in varianta martorului chimic (91%).

In experimentele privind combaterea ciupercii fitopatogene de sol *Rhizoctonia solani* tulpina DSM 63002, *in vivo*, in conditii de temperatura si umiditate controlate, cea mai mare eficacitate % (ABOTT) s-a inregistrat in variantele in care semintele au fost tratate cu biopreparate granulare pe baza de *B. subtilis* B49b +Topsin 500SC 0,7% si *B. amiloliquefaciens* OS17 + Topsin 500SC 0,7% (in ambele variante E=100%) , acestea fiind urmate de varianta in care semintele au fost tratate cu preparatul pe baza de *B.subtilis* OS15+Topsin 500SC 0,7% (E=92%). Observatiile au reflectat faptul ca in majoritatea variantelor in care s-a utilizat ½ din doza produsului chimic in combinatie cu produsele biologice, eficacitatea de combatere a bolii a fost semnificativ mai mare decat in varianta martorului chimic (Topsin 500SC 0,14% , E= 90%).

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

Valorile eficacitatii de combatere a ciupercilor fitopatogene de sol studiate, au demonstrat faptul ca produsele microbiologice aplicate simultan cu cele chimice au contribuit semnificativ la reducerea cantitatii de inocul fungic din sol si implicit la protectia plantelor.



REVICICARI

1. Metoda noua destinata combaterii ciupercilor fitopatogene de sol care determina putregaiul radacinii si al coletului rasadurilor de tomate, *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici*, *Pythium debarianum* si *Rhizoctonia solani*, prin utilizarea simultana a unor biopreparate pe baza de tulpini bacteriene autohtone selectionate si a unor produse chimice aplicate in doza redusa.
2. Metoda noua conform revendicarii 1, **caracterizata prin aceea ca** biopreparatele bacteriene granulare cu o concentratie de 10^9 ufc/ml au fost aplicate pe rand odata cu semanatul ($33\text{g}/\text{m}^2$).
3. Metoda noua conform revendicarii 1, **caracterizata prin aceea ca** produsele chimice destinate combaterii ciupercilor fitopatogene de sol, cum sunt Topsin 500SC (500g/l tiofanat metil) si Previcur Energy 840 SL (530g propamocarb + 310g fosetil / L), sunt aplicate la $\frac{1}{2}$ din doza recomandata.
4. Metoda noua conform revendicarii 1, **caracterizata prin aceea ca** biopreparatele bacteriene granulare au la baza microorganisme autohtone, izolate, caracterizate si selectionate pe baza caracterelor de agenti de combatere biologica.