



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2012 00973

(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:  
• DINU MIHAELA MONICA,  
STR. ZECE MESE NR. 21, SECTOR 2,  
BUCUREȘTI, B, RO;

• FĂTU ANA CRISTINA, STR. HĂȚIȘULUI  
NR. 5, BL. H12, SC. 1, ET. 1, AP. 5,  
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;  
• ANDREI ANA-MARIA, STR. PORUMBACU  
NR. 9, BL. 31, SC. 1, ET. 4, AP. 29, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO

(54) SUBSTRAT NUTRITIV ȘI DE FORMULARE PENTRU  
BEAUSERIA BASSIANA (BALS.) VUILL

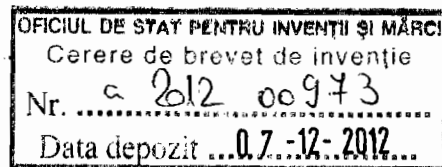
(57) Rezumat:

Invenția se referă la un mediu de creștere pentru obținerea de bioinsecticide. Mediul conform invenției constă dintr-un deșeu de boabe de fasole rezultate ca subprodus din creșterea în masă a insectelor, sau provenite din depozite infestate cu insecte dăunătoare, pe care se cultivă unele specii de ciuperci entomopatogene

de tip *B. bassiana*, pentru obținerea de bioinsecticide inoculante cu virulență ridicată față de gândacul de Colorado.

Revendicări: 1





## SUBSTRAT NUTRITIV SI DE FORMULARE PENTRU *BEAUVERIA BASSIANA* (Bals.) Vuill.

### DESCRIERE

Inventia se refera la utilizarea semintelor de fasole (*Phaseolus vulgaris*) depreciate din cauza atacului provocat de insecte daunatoare, drept substrat nutritiv si de formulare pentru microorganisme entomopatogene din genul *Beauveria*.

Insectele de depozit se hranesc cu continutul boabelor de fasole, distrugând în întregime cotiledoanele si embrionul, afectând astfel valoarea biologica a acestora (germinatie, dezvoltare, cresterea viitoarelor plantute). Daunele provocate sunt calitative si cantitative, în depozite atacul ducând la pierderi de 100 % daca nu se intervine cu masuri de combatere.

Seminte de fasole depreciate rezulta si din activitatea de crestere în conditii controlate (crescatorii de insecte) a gargaritelor (*Acanthoscelides obtectus* Say), în laboratoare de entomologie, în care se fac studii de bioecologie, în vederea elaborarii metodelor de combatere a daunatorilor de depozit.

*Beauveria bassiana* este un microorganism entomopatogen ale carui însusiri biologice (patogenitate/virulenta, stabilitate genetica), biotehnologice (productivitate, stabilitate în formulari) si ecologice (caracter epizootic, persistenta în mediu, toleranta fata de factori adversi) îi confera calitatea de agent de combatere biologica a insectelor daunatoare. Avantajele utilizarii entomopartogenilor fungici, legate în principal de protectia mediului si siguranta alimentara au condus la dezvoltarea unor tehnologii de obtinere la scara comerciala si de aplicare a acestora ca insecticide biologice.

Dezvoltarea micopesticidelor confrunta cercetarea cu diferite probleme tehnice. In comparatie cu producerea agentilor chimici, obtinerea micoinsecticidelor este asociata, din punct de vedere tehnologic, cu conditii speciale (Andersh,1992). Cultivarea microorganismelor la scara industriala si mentinerea viabilitatii celulelor cu activitate insecticida sunt conditii esentiale a caror realizare influenteaza decisiv acceptarea agentilor microbieni de protectie a plantelor. Numai formulari bine definite, stabile si standardizate economic, biologic active, pot deveni produse microbiologice comerciale. De masura în care sunt satisfacute aceste conditii depinde raspândirea (acceptarea)

produselor microbiologice (Soper si Ward, 1981). In acest sens, utilizarea cu succes a bioinsectidelor fungice este conditionata de (1) calitatea "substantei active" (spori de *B. bassiana*), care pentru a asigura eficacitate biologica trebuie sa fie virulenti si sa aiba competente ecologice, si (2) de functionarea unor tehnologii de cultivare care sa asigure productii mari de spori, în conditii de eficienta economica.

In literatura de specialitate sunt prezentate rezultate privind cultivarea ciupercii *B. bassiana* pe urmatoarele substraturi nutritive: pasta de cartofi (Kral si colab., 1953), deseuri de grâu amestecate cu pleava de orez (Gouli si colab., 1997); amestec de malt, agar si pudra din larve de *Galleria mellonella* (El-Sufty, 1983); orez umectat cu apa de nuca de cocos (Ibrahim, Y.B., 1993); cartof cu apa (Kral si colab., 1953); extract porumb si zaharoza/tarâte grâu (Blachere si colab., 1973); amestec de sorg, faina de mei si porumb zdrobit (Karanja si colab., 2010); reziduuri industriale de cartofi, borhot de trestie de zahar, coji de cafea (Santa si colab., 2005), faina de orz (Jenkins si colab., 1998).

**Problema tehnica pe care o rezolva inventia** constă în selectarea unui substrat de crestere (mediu de cultivare) ieftin, accesibil si nutritiv, care asigura obtinerea «substentei active» a biopreparatelor fungice entomopatogene pe baza de *B. bassiana*, în conditii de eficienta economica. Utilizarea acestui nou mediu de cultivare provenit din valorificarea unor deseuri de produse alimentare (boabe de fasole depreciate calitativ), identificat drept substrat nutritiv si de formulare pentru entomopatogenul *B. bassiana* în vederea obtinerii de bioinsecticide, asigura dezvoltarea unei cantitati mari de biomasa fungica, cu proprietati care îi asigura calitatea de agent de combatere biologica a insectelor daunatoare.

Având în vedere faptul ca microorganismele entomopatogene fungice au un ciclu biologic bifazic, respectiv faza de miceliu vegetativ si faza reproductiva, în mod curent, obtinerea biomasei fungice se face printr-un procedeu difazic, care cuprinde (I) obtinerea miceliului vegetativ în mediu de cultura lichid si (II) obtinerea sporilor fungici (conidii) pe mediu de cultura solid. Obtinerea culturii fungice lichide reprezinta o faza foarte costisitoare a procesului tehnologic, consumatoare de energie, necesitând forta de munca calificata, aparatura speciala de laborator, substante, reactivi costisitori.

**Avantajele inventiei** sunt în legatura cu:

- (1) calitatea „substanei active”: procedeul de colonizare microbiana a substratului organic care face obiectul prezentei inventii, asigura obtinerea unei biomase fungice robuste, cu capacitate crescuta de supravietuire si raspândire; introdusa în sol, în ciuda rezistentei naturale a habitatului, aceasta își pastreaza viabilitatea si caracterul de patogenitate. Biomasa fungica rezultata prin acest procedeu contine o cantitate mare de „substanta” biologic activa, cu efect insecticid si de ameliorare a calitatii solului;
- (2) eficienta economica a procedului de cultivare - rezulta din valorificarea superioara a unor deseuri din categoria produselor agro-alimentare depozitate, pentru multiplicarea unor microorganisme entomopatogene cu rol de agenti de control biologic al insectelor daunatoare;
- (3) scaderea pretului de cost al procedului de fermentatie microbiana, implicit al biopreparatului fungic, prin scurtarea perioadei de colonizare a substratului organic de crestere: conform inventiei, pentru cultivarea tulpinilor fungice pe boabe de fasole, nu mai este necesara parcurgerea fazei de multiplicare în mediu lichid pentru colonizarea substratului nutritiv (boabe de fasole), conform inventiei, inocularea acestuia fiind facuta direct cu conidii obtinute pe mediu solid. In aceste conditii, luând spre exemplificare o cultura de cartof în care sunt necesare tratamente cu biopreparate entomopatogene, pretul de cost al biomasei fungice obtinute conform inventiei este de numai 80-100 lei/hectar.

In continuare se prezinta **exemple de realizare a inventiei**:

**Exemplul 1.** Izolarea/caracterizarea tulpinii de *B. bassiana* utilizate pentru testarea substratului nutritiv (boabe de fasole infestate cu gargarite)

Materialul biologic folosit pentru izolarea unei tulpini de *B. bassiana* a fost reprezentat de dipterul *Sciara* sp. (musculita neagra), în stadiul de adult, colectat din focar epizootic natural. Dupa izolare prin *metoda izolarii directe*, tulpina fungica (BbSc) a fost purificata si conservata în eprubete, pe mediu înclinat peptona-dextroza-agar (PDA), la 4°C. Coloniile fungice monosporale au fost analizate morfo-cultural si patologic.

S-au obtinut urmatoarele rezultate privind dinamica cresterii vegetative a tulpinii BbSc pe diferite medii de cultura:

Mediul de cultura	Diametrul coloniilor (mm) dupa... zile:								
	3	4	5	6	7	10	11	12	13
Czapek	3,59	5,17	8,22	10,86	16,33	26,22	28,00	28,61	32,39
Sabouraud	3,76	5,72	7,67	9,00	11,39	16,78	17,56	18,06	18,89
PDA	6,83	10,17	13,78	19,44	26,22	35,78	37,67	39,87	41,36

Caracteristicile morfologice ale tulpinii BbSc sunt prezentate în tabelul urmator:

Aspecte morfologice la 10 zile	Mediul de cultura sintetic		
	Czapek	Sabouraud	PDA
Forma	rotunda	rotunda, bombata	rotunda, putin bombata
Profil sectiune	plat	semisferic, aspect vatos	plat
Conturul coloniei	filamentos	întreg	regulat
Transparenta	translucida	opac	opac
Sporulare	prezenta	prezenta	prezenta

Evaluarea gradului de patogenitate al tulpinii BbSc s-a facut pe urmatoarele insecte de depozit, prin contaminarea substratului de crestere cu biomasa fungica (BbSc) sporulata: gargarita grâului (*Sitophilus granarius* L., gândacul din Surinam (*Oryzaephilus surinamensis* L.), gândacul roscat al fainii (*Tribolium castaneum* Herbst.), gândacul de faina (*Tenebrio molitor* L.), molia fructelor uscate (*Plodia interpunctella* Hubner), molia stupilor (*Galleria mellonella* L.), gargarita fasolei (*Acanthoscelides obtectus* Say). Insectele au fost crescute în conditii controlate, în crescatoria de insecte a Institutului de Cercetare-Dezvoltare pentru Protectia Plantelor, Bucuresti (ICDPP), pe medii naturale nutritive specifice. Evidentierea mortalitatii induse de tulpina fungica BbSc s-a facut prin metoda «camerei umede». Pentru stabilirea procentului de mortalitate s-au luat în calcul indivizii care au evidentiat, in decurs de 48-72 ore, simptomele infectiei micotice. Rezultatele obtinute (procente de mortalitate cuprinse între 25-80%) au demonstrat faptul ca entomopatogenul *B. bassiana*, tulpina BbSc, este patogena fata de insectele de depozit, manifestând fata de acestea, grade diferite de virulenta.

#### **Exemplul 2.** Cultivarea tulpinii fungice BbSc pe boabe de fasole autoclavate

S-a verificat posibilitatea cultivarii ciupercii *B. bassiana* pe mediu solid reprezentat de boabe de fasole provenite din crescatoria de insecte a ICDPP si rezultând ca subprodus

din cresterea în masa a gargaritei fasolei (*A. obtectus*), ca insecta test pentru analize de laborator. Cultivarea s-a facut în pungi de plastic autoclavabile (tip DELTALAB), cu dimensiunea de (300/600 mm), prevazute, pentru aerisire si inoculare, cu câte un tub de pexal acoperit cu dop de vata. Pentru fiecare punga, s-au cântarit câte 200 g boabe fasole; s-au adaugat 200 ml apa de robinet. Dupa autoclavare (1,0 atm.), la temperatura de 121<sup>0</sup>, timp de 60 min., apoi racire pâna la temperatura de 20-30<sup>0</sup>C, pungile au fost inoculate, în conditii aseptice, cu conidii provenite din culturi pe mediu agarizat. Dupa inoculare, pungile au fost agitate manual pentru raspândirea cât mai uniforma a biomasei fungice inoculante, apoi asezate în pozitie orizontala si presate usor pâna la dispunerea boabelor de fasole într-un singur strat. Dupa 15 zile de incubare la 24-26<sup>0</sup>C, în conditii stationare, fiecare bob de fasole s-a acoperit complet cu miceliu fungic sporulat, de culoare alba, cu aspect prafos. S-a obtinut o productie medie de biomasa fungica de 1,1x10<sup>9</sup> conidii/gram substrat nutritiv (boabe de fasole), rezultat care demonstreaza faptul ca boabele de fasole reprezinta un substrat nutritiv valorificat eficient de *B. bassiana* pentru sporularea fungica.

### **Exemplul 3.** Testarea competentelor bioecologice ale biomasei fungice

Având în vedere faptul ca *B. bassiana* crescuta pe boabe de fasole va fi utilizata ca agent de combatere a daunatorilor care au stadii de dezvoltare în sol, substratul organic micozat (cf. exemplul 1) a fost evaluat din punct de vedere al masurii în care durata de incubare în sol influenteaza parametrii biologici ai biomasei fungice. Testul s-a desfasurat în conditii de câmp experimental si a constat în analiza microbiologica a tulpinii fungice introduse în sol pe substrat organic (adâncimea de 10 cm), din punct de vedere al capacitatii de germinare, de multiplicare si de raspândire în mediu. Dupa 15, 30 respectiv 60 zile de la inocularea solului, s-au prelevat probe de sol; analiza microbiologica a probelor de sol s-a facut dupa 24 ore de la prelevare, perioada în care acestea au fost pastrate în pungi de plastic la 4<sup>0</sup>C. Adâncimea de prelevare a probelor a fost de: 0—5 cm, respectiv 5-10 cm, fiecare proba analizata (S1, S2, S3) fiind rezultata din amestecarea a câte 15 subprobe; din amestecul obtinut s-au luat probe medii de 10 g pentru examenul microbiologic de laborator. Proba finala a fost uscata în aer liber pentru stoparea activitatii microbiologice înainte de analiza de laborator; pentru aceasta, solul a fost presarat în strat de 1 cm pe o folie de aluminiu. Pentru examinarea si analiza microbiologica a probelor de sol s-a folosit metoda examinarii directe prin microscopie optica si metoda spalarii solului. Pentru evaluarea cantitativa a conidiilor de *B. bassiana*

reizolate din sol s-a aplicat tehnica suspensiilor diluate: s-au facut dilutii succesive din suspensii apoase de sol (2 g sol/100 ml apa sterilizata). Câte 1 ml din fiecare dilutie s-a însamântat pe câte o cutie Petri cu diametrul de 10 cm. Numararea coloniilor s-a facut dupa 72 ore de incubare la 23°C. Pentru fiecare dilutie s-au utilizat câte 3 cutii Petri. Metoda hematocitometrica s-a folosit pentru determinarea numararii de conidii la unitatea de volum de apa.

Pentru evaluarea puterii de germinare a conidiilor, suspensiile conidiene (10 µl/placa) au fost însamântate pe mediu agarizat, incubat la 28°C. Testul de germinare a fost făcut la 24, 48 și 72 de ore. Caracterizarea patologica a tulpinii fungice reizolate din sol s-a facut, în conditii de laborator, prin metoda biotestarii pe insecta test *Plodia interpunctella*. Rezultatele au fost interpretate static (ANOVA, Program Biostat2008) si prin metoda probitului.

Examinarea directa a terenurilor din câmpurile experimentale, înainte de prelevarea probelor a evidentiat faptul ca patogenul a colonizat solul, în diferite grade, în zonele tratate fiind identificat miceliul alb al ciupercii. Dupa 15 zile de la aplicarea substratului organic micozat, procentul de regasire a conidiilor la adâncimea de 5 cm, a avut valori >85%; la adâncimea de 10 cm valoarea procentului a scazut cu aproximativ 40%; dupa 30 de zile de la aplicarea tratamentului, procentul de regasire a conidiilor s-a mentinut la valori foarte ridicate – 73-81%. Observatiile efectuate la 60 zile dupa aplicarea produsului biologic au evidentiat scaderea de 1,9 x a cantitatii de patogen din sol. Prelucrarea statistica a datelor a evidentiat faptul ca durata perioadei de incubare în sol a indus modificari semnificative ( $p < 0,05$ ) în procentul de regasire a entomopatogenului inoculat în sol. Rezultatele privind evaluarea capacitatii de colonizare a solului de catre biomasa fungica dezvoltata pe boabe de fasole sunt prezentate în tabelul de mai jos:

Intervalul de observatie (nr. zile dupa aplicarea biomasei fungice)	Proba de sol					
	S1		S2		S3	
	Adâncimea probei de sol (cm)					
	0-5	5-10	0-5	5-10	0-5	5-10
	Numar conidii x 10 <sup>10</sup> / mp					
T <sub>0</sub> (martor)	9,23		7,94		11,03	
15	7,85	3,69	6,75	3,18	9,37	4,141
30	7,38	6,92	6,35	5,95	8,93	8,27
60	4,86	4,85	4,18	4,19	5,80	5,81

Rezultatele privind evaluarea puterii germinative a sporilor de *B.bassiana* reizolati din sol, la diferite intervale de timp dupa aplicarea tratamentelor biologice, sunt prezentate în tabelul urmator:

Intervalul de observatie (nr. zile dupa aplicarea biomasei fungice)	Perioada de incubare a culturilor fungice	Proba de sol					
		I		II		III	
		Adâncimea probei de sol (cm)					
		0-5	5-10	0-5	5-10	0-5	5-10
		Germinare conidii (%)					
15	24	54,5	56,3	53,6	52,7	55,4	55,4
	48	80	52,7	64,5	60	68,1	63,6
	72	84,5	77,2	75,4	69,0	78,1	76,9
30	24	53,6	52,7	45,4	45,4	45,4	44,5
	48	72,7	67,2	57,2	53,6	63,6	59,0
	72	80,9	70	71,8	65,4	74,5	68,1
60	24	38,1	37	37,7	31,8	39	37,2
	48	55,4	51,8	50	46,3	53,6	50
	72	63,6	60	60,9	57,2	66,3	60,9

Procentul de germinare a conidiilor a înregistrat valori maxime (71-93%) dupa 60 ore, indiferent de adâncimea de la care au fost prelevate probele. Comparativ cu varianta martor (incubare în conditii controlate), cea mai mare scadere a capacitatii de germinatie a conidii lor s-a înregistrat dupa 60 de zile de incubare în sol. Prelucrarea statistica a datelor demonstreaza faptul ca durata perioadei de incubare în sol a indus modificari foarte înalt semnificative ( $p < 0,001$ ) în capacitatea de germinatie a conidiilor.

Pentru decelarea modificarii unor însusiri morfo-culturale, conidiile reizolate din terenul experimental au fost însamântate pe mediu agarizat (PDA), parametrul biologic selectat pentru aceasta evaluare fiind capacitatea de multiplicare vegetativa a entomopatogenului. In proba S1, rata medie zilnica de crestere a avut valori cuprinse între 0,51-0,67 cm în stratul superficial al solului (0-5 cm), respectiv între 0,39-0,43 cm, la adâncimea de 10 cm. In proba S2, rata medie zilnica de crestere a conidiilor izolate din profilele de sol analizate (5 si 10 cm) a înregistrat valori medii de 0,28 cm/24 ore. In proba S3 s-au înregistrat rate de crestere asemanatoare, cu maxime de 0,31 cm/24 ore si minime de 0,21 cm/24 ore. Prelucrarea statistica a datelor evidentiaza faptul ca durata perioade de incubare în sol nu a indus modificari semnificative ( $p > 0,05$ ) în capacitatea de multiplicare vegetativa a entomopatogenului *B. bassiana*.



S-a testat virulenta biomasei fungice dupa reizolare din sol, de la adâncimea de 5 cm (insecta test *A. obtectus*). Pe baza procentelor de mortalitate înregistrate s-au obtinut valorile dozelor letale (50%) exprimate în numar conidii/g mediu de crestere ( $\times 10^5$ ): S1: 1,03>1,01>0,50; S2: 2,12>2,07>1,03; S3 : 1,89>1,84>0,93.

Rezultatele obtinute demonstreaza faptul ca boabele de fasole depreciate calitativ, urmare a infestarii cu insecte de depozit, reprezinta un mediu pe care entomopatogenul *B. bassiana* îl poate exploata ca substratul nutritiv, în conditii de stabilitate a parametrilor ecobiologici responsabili de eficacitatea tratamentelor cu biopreparate entomopatogene.

#### Bibliografie

- Andersh, W. (1992). "Produktion von Pilzen als Pflanzenschutzmittel". Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 45, 129-142.
- Blachere, H., Calvez, J., Ferron, P., Corrieu, G. & Peringer, P. (1973). "Etude de la formulation et de la conservation d'une preparation entomopathogime a base de blastospores de *Beauveria tenella* (Delacr. Siemaszko)". Annales de ZoologieEcologie Animale 5, (1), 69-79.
- Chavan S., Chinnaswamy K.P. and Changalarayappa (1998). "Silkworm pupal powder as ingredient of culture media of *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill". Insect Environment 4 (1), 21.
- El-Sufy R.; M.B. Shaver; H.A. Boraie and H.A. Mansour (1993). "Microbial control of the greater wax moth, *Galleria mellonella* by the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill". Egyptian Journal of Biological Pest Control, Vol.3, Issue2, pp.163-167.
- Feng M.G., Poprawski T.J. and Khachatourians G.G. (1994). "Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status". Biological Control Science and Technology. 4, 3-34.
- Feng M.G., Pu X.Y., Ying S.H. and Wang Y.G. (2004). "Field trials of an oil based emulsifiable formulation of *Beauveria bassiana* conidia and low application rates of imidacloprid for control of false-eyed leafhopper *Empoasca vitis* in Southern China". Journal of Crop Protection 23(6), 489-496.
- Gouli S., Parker B., Skinner M. (1997). Isolation of fungi associated with hemlock woolly adelgid (Homoptera: Adelgidae). Journal of Invertebrate Pathology. 1997;70:76-77.
- Jenkins N.E., Heviefo G., Langewald J., Cherry A. J. and Lomer C.J. (1998). "Development of mass production technology for aerial conidia for use as mycopesticides". Biocontrol News Inf. 19, 21-31N.
- Karanja LW, Phiri N A, Oduor, G.I. (2010). "Effect of different solid substrates on mass production of entomopathogens, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*". 12th KARI Biennial Scientific Conference, 8-12 November 2010, Nairobi, Kenya.
- Khetan S.K. (2001). "Microbial Pest Control", 1<sup>st</sup> ed. Marcel Dekker.
- Kral, J., S. Neubauer. (1953). Pouziti entomofytnica hubrodu beauveria proti mandelince bramorove. Zool.A Ent.Listy 2, 241-250.
- Lomer C.J., Prior C. and Kooyman C. (1997). "Development of *Metarhizium* sp. for the control of grasshoppers and locusts". In: Goettel MS, Johnson DL, editors. Microbial Control of Grasshoppers and Locusts. Memoirs of the Entomological Society of Canada 171, 265-286.
- Santa, Herta Stutz Dalla et al. (2005). "Spore production of *Beauveria bassiana* from agro-industrial residues". Braz. arch. biol. technol.[online]. 2005, vol.48, n.spe, pp. 51-60. ISSN 1516-8913.
- Sergio O., Pablo S. and Martin A. (2003). "Native and Introduced Host Plants of *Anastrepha fraterculus* and *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in Northwestern Argentina". Journal of Economic Entomology 96 (4), 1108 - 1118.
- Somasekhar N., Mehta U.K. and Hari K. (1998). "Evaluation of sugarcane by-products for mass multiplication of nematode antagonistic fungi". In: Nematology: challenges and opportunities in 21st Century. Proceedings of the Third International Symposium of Afro Asian Society of Nematologists (TISAASN), Sugarcane Breeding Institute (ICAR), Coimbatore, India, April 16-19, 1998. Afro Asian Society of Nematologists; Luton; UK. 199-202.
- Soper, R.S., Ward, M.G. (1981). "Produktion, Formulation and Application pf Fungi for insect Control". In (Papawizas, G.C.ed): Biological control in Crop Production, BARC Symposium, 5, 161-180.

**SUBSTRAT NUTRITIV SI DE FORMULARE PENTRU *BEAUVERIA BASSIANA* (Bals.) Vuill.**

### **REVENDICARE**

Mediu de cultivare pentru fungi entomopatogeni din genul *Beauveria* sp., reprezentat de deseuri de boabe de fasole, rezultate ca subprodus din creșterea în masă a insectelor, sau provenite din depozite infestate cu insecte daunatoare. Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în selectarea unui substrat de creștere (mediu de cultivare) ieftin, accesibil și nutritiv, care asigură obținerea «substanței active» a biopreparatelor fungice entomopatogene pe baza de *B. bassiana*, în condiții de eficiență economică. Utilizarea acestui nou mediu de cultivare a unor specii de ciuperci entomopatogene, identificat drept substrat nutritiv și de formulare pentru entomopatogenul *B. bassiana* în vederea obținerii de bioinsecticide, asigură dezvoltarea unei cantități mari de biomasă fungică, cu proprietăți care îi asigură calitatea de agent de combatere biologică a insectelor daunatoare.