



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2019 00159

(22) Data de depozit: 12/03/2019

(41) Data publicării cererii:
30/09/2020 BOPI nr. 9/2020

(71) Solicitant:

- UNIVERSITATEA DIN PITEȘTI,
STR. TÂRGUL DIN VALE NR. 1, PITEȘTI,
AG, RO;
- INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE
DEZVOLTARE PENTRU CHIMIE ȘI
PETROCHIMIE - ICECHIM BUCUREȘTI,
SPLAIUL INDEPENDENȚEI, NR. 202,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
- UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN
BUCUREȘTI, SPLAIUL INDEPENDENȚEI
NR. 313, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
- INSTITUTUL DE CERCETARE-
DEZVOLTARE PENTRU POMICULTURĂ
PITEȘTI-MĂRĂCINENI, STR. MĂRULUI
NR. 402, COMUNA MĂRĂCINENI, AG, RO

(72) Inventatori:

- SOARE CRISTINA LILIANA,
STR. VASILE GOLDIS, NR. 8A, BL. 4BCD,
SC. C, AP. 12, ALBA IULIA, AB, RO;
- FIERĂSCU IRINA,
STR. CÂMPIA LIBERTĂȚII NR. 5, BL. PM60,
SC. A, AP. 48, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B,
RO;
- FIERĂSCU RADU CLAUDIU,
STR. DUNĂRII, BL. D4, ET. 4, AP. 18,
ROȘIORI DE VEDE, TR, RO;
- UNGUREANU CAMELIA, ALEEA DOLINA
NR. 1, BL. 134, ET. 2, SC. 1, AP. 12,
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;
- CĂLINESCU MIRELA FLORINA,
STR. ALEXANDRU GOLESCU, NR. 63,
ȘTEFĂNEȘTI, AG, RO;
- DOBRESCU CODRUȚA MIHAELA,
STR. BRÂNDUȘEI, NR. 47A, ALBA IULIA, AB,
RO;
- ȘUȚAN ANCA NICOLETA,
STR. LA RECEA, NR. 28, ALBA IULIA, AB,
RO

(54) SOLUȚIE ECOLOGICĂ ANTIFUNGICĂ
PENTRU COMBATEREA TULPINILOR FITOPATOGENE
CARE AFECTEAZĂ CULTURILE DE MĂR ȘI METODĂ
DE OBTINERE A ACESTEIA

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unei compoziții ecologice cu efect antifungic pentru culturile de meri. Procedeul, conform invenției, constă în etapele de preparare a unui extract alcoolic din frunze de *Asplenium scolopendrium* utilizând material vegetal: solvent etanol la un raport 1:9..10, la o temperatură de

65...68°C, timp de 3...4h, filtrare pentru îndepărtarea materialului vegetal, rezultând o compoziție care se păstrează la rece pentru o perioadă de utilizare de cel puțin 6 luni.

Revendicări: 3

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art. 32 din Legea nr. 64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art. 23 alin. (1) - (3).



**SOLUȚIE ECOLOGICĂ ANTIFUNGICĂ PENTRU COMBATerea TULPINILOR
FITOPATOGENE CARE AFECTEAZĂ CULTURILE DE MĂR ȘI METODĂ DE OBTINERE A
ACESTEIA**

Prezenta invenție se referă o soluție ecologică de combatere a tulpinilor patogene care afectează culturile de meri (de tipul *Podosphaera leucotricha* (Ellis & Everh.) E.S. Salmon, (1900) responsabilă cu făinarea, respectiv *Venturia inaequalis* (Cooke) G.Winter (1875), microorganism responsabil cu apariția rapănului), bazată pe extract alcoolic obținut din specia de ferigă *Asplenium scolopendrium* L.

În ultima perioadă, bolile care apar la pomii fructiferi (măr, păr, piersic, cais, etc.) sunt tot mai frecvente, dar și foarte virulente. Explicații ar fi schimbarea climei în multe zone care duce la creșterea gradului de precipitații, a umidității și a schimbării direcției vântului, dar și a aplicării în exces sau unilaterale a îngrășămintelor cu azot. De asemenea, și rezistența germinilor patogeni la multitudinea de tratamente de sinteză este o cauză demnă de luat în considerare [Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests Second Edition. The American Phytopathological Society, 2015, pp. 46–51; Giraud, T., Gladieux, P. and Gavrillets, S., 2010, Linking the Emergence of Fungal Plant Diseases with Ecological Speciation. Trends in Ecology and Evolution, 25, 87-395; Agrios, G.N., 2005, Plant Pathology Edition 5. Elsevier Academic Press, pp. 451].

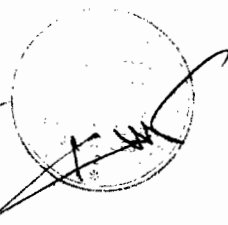
Se caută soluții pentru eradicarea acestor boli la o scară cât mai mare, iar una dintre aceste soluții este înlocuirea tratamentelor obținute prin sinteză chimică cu fungicide obținute pe căi mai prietenoase mediului înconjurător și la care microorganismele răspunzătoare cu aceste boli nu au devenit încă rezistente.

În cazul merilor, de exemplu, cele mai frecvente boli sunt făinarea și rapănul pentru aceste boli fiind responsabile microorganismele patogene de tipul *Podosphaera leucotricha* (Ellis & Everh.) E.S. Salmon, (1900) și *Venturia inaequalis* (Cooke) G.Winter (1875).

P. leucotricha reprezintă ciuperca responsabilă cu făinarea speciilor de măr (boală prezentă pe toate continentele). Această boală apare de la dez mugurire și continuă până la căderea frunzelor toamna, având o incidență mai mare în lunile mai-iunie. În cazul făinării sunt atacate florile, frunzele, lăstarii dar și fructele tinere. Boala se manifestă sub forma unei făini albicioase care acoperă toate organele enumerate mai sus și duce la uscarea lor timpurie. *P.leucotricha* acoperă lăstarii cu un strat de miceliu albicios sub forma de făină în momentul în care se formează sporii iar toamna acest praf devine brun în momentul apariției fructificațiilor ciupercii. Fructele se usucă fără a forma fructe devenind "flori de ceară". Cel mai sensibil soi la



1.000



făinare este Jonathan, pe fructe apărând o rețea fină de țesut brunificat. Iarna acest agent patogen sub formă de miceliu de rezistență vegetează între solzii mugurilor care primăvara formează lăstari, frunze, flori care constituie primele surse de infecție. Astfel, ca primă măsură de prevenire și combatere se recomandă ca lăstarii puternic afectați să fie tăiați și distruși prin ardere.

Pe lângă făinare, rapănul este de asemenea o boală foarte agresivă care atacă speciile de meri. *V. inaequalis* este microorganismul răspunzător de această boală care atacă toate părțile aeriene ale pomului în special frunzele și fructele. Pe spatele frunzelor apare sub forma unor pete cenușii care pe măsură ce cresc se brunifică, iar la flori apare pe sepal. Pe fructe apar aceleași pete cenușii care pot să crească în dimensiuni și să fie porți de intrare pentru alte boli și microorganisme.

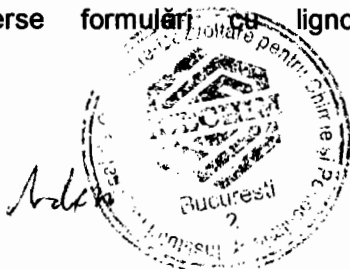
Fungicidele sintetice clasice utilizate împotriva acestor daunatori aparțin unor clase diverse de compusi chimici (fenilamide, derivați de benzimidazol, dicarboximide, carbamați, carbanilați, ditiocarbamați, dinitroaniline etc.), fiind săruri și complecși de sulf și de cupru. Utilizarea acestor agenți sintetici este limitată de fenomenul de rezistență cunoscut, precum și de efectele toxice care pot fi induse la oameni și animale și prin potențialul lor de poluare asupra mediului. Studiile de risc ecologic au arătat ca acești produși sunt toxici când se aplică în cantități mari, sau când se produc fenomene de acumulare, atât pentru mediul înconjurător cât și pentru sănătatea umană.

În prezent, este foarte dificil să se controleze aceste boli din mai multe motive. În primul rând, acestea au dezvoltat rezistență la unele fungicide, iar în al doilea rând, unele fungicide eficiente sunt interzise în unele zone, deoarece sunt dăunătoare pentru mediu sau pentru oameni.

O altă problemă este că, adesea, tratamentele disponibile în prezent trebuie aplicate în mod repetat pentru a fi eficiente și pentru a trata infecțiile secundare. Unele livezi de măr sunt tratate cu fungicide pentru aceste boli de până la 3 ori într-un sezon de creștere. Stropirile suplimentare cu tratamente antifungice sunt costisitoare și consumă resurse de timp și resurse de muncă semnificative. În plus, fiecare nouă aplicare crește riscul de expunere a pomilor sănătoși la tratamente chimice inutile.

Alte metode de tratare a mărului sunt disponibile, dar s-au dovedit a fi ineficiente sau impracticabile în implementare. Unele metode necesită personal instruit în echipamente costisitoare specializate pentru a aplica produsul. Alte metode scumpe includ foraj invaziv sau injecții în coaja.

Brevetul 3326748 din 1967 revendică o metoda de control a făinării și o compoziție împotriva acestei boli, bazată pe săruri de zinc și stibiu N,N-dibutilditiocarbamați ca agenți activi, în diverse formulări, cu lignosulfonat de sodiu, alchilfenoxipoli(etilenoxi) etanol,



170h



dimetilditiocarbamat de zinc, dimetilditiocarbamat de fier, sare de zinc a etilen bis-ditiocarbamat, N-(triclorometil-tio)-4-ciclohexena-1,2-dicarboxinida.

Brevetul WO 2007/139382 A2 revendică o metodă de control a bolilor ce afectează culturile de meri (rapanul și fainarea), bazată pe extract de *Yucca* spp în amestec cu sulf și bicarbonat de potasiu.

Brevetul WO 2009/082206 A1 revendică o metodă bazată pe compus metalic, un acid lignosulfonat fosforic și/sau o sare și/sau hidrată sau ester, utilizată ca fungicid, bactericid sau fertilizator și utilizarea sa în prevenirea precipitatelor de fosfiți metalici în soluții apoase.

Brevetul WO 2010/083307 A2 revendică o metoda de utilizare a unei mixturi continand compusi pe baza de hidrazona si cupru pentru controlul cresterii fungice.

Brevetul WO 2017/004334 A1 revendica o metoda de control a fainarii la culturile de mar bazata pe o solutie de tratare cu silicon si 3-(difluoromethyl)-1-methyl-1H-5,1,3-trimethyl-2,3-dihydroinden-4-yl]pyrazole-4-carboxamide.

Brevetul O 511 167 A1 revendica o metoda antifungica bazata pe amestecul dintre fungicidele EBI Triazol si ditiocarbamat, in diverse proportii. EBI triazolul utilizat este un fungicid de inhibare a biosintezei de ergosterol (EBI) aparținând clasei de triazoli, iar ditiocarbamatul este selectionat dintre fungicidele Zineb, Maneb, Mancopper, Mancozeb și Propineb.

Scopul acestei inventii este gasirea unei solutii ecologice, ieftine si eficiente, de combatere a tulpinilor patogene care afecteaza culturile de meri si metoda de obtinere a acesteia.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția consta în obținerea unui nou tip de agent antifungic, impotriva a doua tipuri de boli ce afecteaza culturile de meri (rapan si fainare), concomitent cu proprietatea de a nu fi toxic pentru mediu si sanatatea umana si a fi ieftin si eficient.

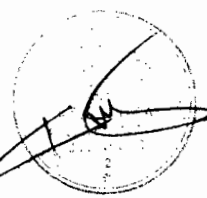
Solutia ecologica de combatere a tulpinilor patogene care afecteaza culturile de meri, este bazata pe extract alcoolic (preparat termic) din feriga *Asplenium scolopendrium* L.

Pentru obtinerea extractului alcoolic de *Asplenium scolopendrium* L., materialul vegetal se usucă la temperatura camerei pentru o perioadă cuprinsă între 10-30 zile. Materialul vegetal uscat se macină până la atingerea unor dimensiuni între 40-100 μm. Materialul vegetal astfel măcinat este supus extracției cu etanol (puritate 96%), la o temperatură între 60- 82°C, pentru o perioadă de timp între 1-6 ore, într-un raport variabil material vegetal: solvent între 1:20 și 1:5. După extracție, se filtrează pentru îndepărtarea materialului vegetal, iar extractul se păstrează la rece, putând fi folosit pentru o perioadă de cel puțin 6 luni.

Soluția propusă, conform invenției, **înlătură dezavantajele** utilizării substantelor chimice de sinteza, prin aceea că utilizează materiale ieftine ce se pot recolta din flora autohtona, nu



17/04



necesita substante si solventi toxici si/sau periculosi, si este fără acțiune negativă asupra mediului și sănătății umane.

Avantajul utilizarii acestei solutii ecologice de combatere a tulpinilor patogene care afecteaza culturile de meri este ca utilizeaza solventi netoxici, este naturala si fara reactii adverse, este ieftina, si nu prezinta acțiune negativă asupra mediului și sănătății umane.

Se dau în continuare doua exemple de aplicare a Invenției.

Exemplul 1

S-a testat din punct de vedere antimicrobian o probă de extract alcoolic (preparat conform descrierii), utilizând un raport material vegetal:solvent de 1:9, supus extracției pentru o perioadă de 3 ore, la temperatura de 65°C.

Microorganismul utilizat a fost o tulpină patogenă care afectează culturile de meri. Acesta a fost izolată în laborator de pe frunze atacate de măr și anume *Podosphaera leucotricha* responsabilă cu făinarea. Ciuperca a fost cultivată în mediul de cultură Potato Dextroză Agar (PDA) la 37°C (P.D.A. a avut următoarea compoziție: 20 g/L dextroză, 15 g/L agar, și 4 g/L amidon din porumb) suplimentat cu 1% cloramfenicol pentru evitarea infectării cu bacterii.

Activitatea antifungică a fost determinată prin măsurarea diametrului de inhibiție [Silva, C.D.S., Figueiredo, H.M.D., Stamford, T.L.M., Silva, L.H.M.D., Inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oil in ground beef, *International Journal of Food Microbiology*, 293, pp. 79-86, 2019)].

S-a observat un diametru de inhibiție de 27 mm asupra ciupercii exercitat de extractul alcoolic testat, față de 30 mm cât a fost diametrul de inhibiție rezultat după testarea matorului pozitiv, un fungicid comercial de sinteză, pe bază de Ditanon și Piraclostrobin (80%), utilizat la o concentrație de 15% (conform instrucțiunilor producătorului). Având în vedere că rezultatele sunt apropiate se recomandă utilizarea acestui biofungicid în detrimentul unuia de sinteză chimică.

Exemplul 2

Se procedează la fel ca la exemplul 1, diferă doar microorganismul patogen asupra căruia s-a testat activitatea antifungică și anume *Venturia inaequalis*, microorganism responsabil cu apariția rapănului.

S-a determinat un diametru de inhibiție de 28 mm asupra fungului *Venturia inaequalis* sub acțiunea extractului alcoolic obținut utilizând un raport material vegetal:solvent de 1:10, supus extracției pentru o perioadă de 4 ore, la temperatura de 68°C.



17/03



Diametru de inhibiție fiind mai mare față de cel obținut în cazul martorului (diametru de inhibiție – 20 mm), un fungicid comercial având ca substanță activă sulful (80%), utilizat la o concentrație de 3% (conform instrucțiunilor producătorului).



A faint circular stamp, likely from the same ministry, with a handwritten signature written over it.



Revendicări

1. Soluție ecologică cu efect antifungic, **caracterizată prin aceea că** este bazată pe extract obținut pe cale termică (la o temperatură între 60-82°C, pentru o perioadă între 1-6 ore) din frunzele unei plante autohtone, *Asplenium scolopendrium* L., utilizând un raport material vegetal: solvent între 1:20 și 1:5
2. Soluție ecologică pentru tratarea rapănului la măr, **caracterizată prin aceea că** este constituită din extract natural obținut din frunzele unei plante autohtone (*Asplenium scolopendrium* L.), obținut utilizând un raport material vegetal: solvent 1:9, la o temperatură de 65°C, timp de extracție 3,5 ore.
3. Soluție ecologică pentru tratarea făinării la măr, **caracterizată prin aceea că** este constituită din extract natural obținut din frunzele unei plante autohtone (*Asplenium scolopendrium* L.), obținut utilizând un raport material vegetal: solvent 1:10, la o temperatură de 68°C, timp de extracție 4 ore.



A handwritten signature in black ink.



A handwritten signature in black ink.