



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2018 00535

(22) Data de depozit: 18/07/2018

(41) Data publicării cererii:
30/07/2020 BOPI nr. 7/2020

(71) Solicitant:
• C&A PROIECT S.R.L.,
STR.VICTOR PAPILIAN NR.6A,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(72) Inventatori:
• COPACIU FLORINA-MARIA,
STR.PETUNIEI NR.1, AP.29,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;

• COPOLOVICI LUCIAN-OCTAV,
STR.SĂVĂRȘIN NR.174, AP.8, ARAD, AR,
RO;
• SIMA RODICA-MARIA,
CALEA MĂNĂȘTUR NR.95, AP.66,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• BUNEA ANDREA, STR.VIDRARU
NR.13-15, AP.14, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• MICLEA RALUCA-VASILICA,
STR.MUREȘULUI NR.241, SAT ȘIBOT, AB,
RO

(54) PRODUS PENTRU CONTROLUL AGENTULUI FITOPATOGEN
BOTRYTIS CINEREA ÎN CULTURA ECOLOGICĂ DE TOMATE

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un produs pentru controlul agen-
tului fitopatogen *Botrytis Cinerea* în cultura ecologică de
tomate. Produsul conform invenției este sub formă de

soluție constituită din CaCl_2 și acid salicilic în raport
masic 1:2 și 997 părți apă.

Revendicări: 2

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).



**PRODUS PENTRU CONTROLUL AGENTULUI FITOPATOGEN *BOTRYTIS CINEREA*
ÎN CULTURA ECOLOGICĂ DE TOMATE**

DESCRIEREA INVENȚIEI

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI Cerere de brevet de invenție Nr. <i>a 218 ∞ 535</i> Data depozit <i>1.8.07.2018</i>

Invenția se referă la un produs inexistent pe piață având ca scop combaterea agentului fitopatogen *Botrytis cinerea* în cultura ecologică de tomate, în condițiile asigurării securității și calității nutriționale a fructelor obținute. Această invenție propune prepararea unui produs care să crească rezistența plantelor de tomate la acest agent patogen prin stimularea mecanismului de apărare al plantei datorită folosirii unui preparat pe bază de CaCl₂ și acid salicilic. Trebuie menționat faptul că CaCl₂ este o substanță acceptată în cultura ecologică, iar acidul salicilic este o substanța care se găsește în mod natural în plante având multe efecte benefice asupra plantelor.

În ultimii ani fungicidele au devenit cea mai importantă componentă a schemelor de combatere integrată a dăunătorilor și bolilor în agricultura modernă, acestea reprezentând peste 52% din toate produsele de protecție ale plantelor utilizate în Uniunea Europeană (Regueiro et al., 2015). Fungicidele sunt frecvent utilizate în tehnologiile culturilor agricole, acestea ajungând în aer, sol și apă, determinând dezechilibre în cadrul ecosistemelor învecinate. Expunerea consumatorului la reziduurile de fungicide din fructe și legume îi periclitează sănătatea, iar studii recente au raportat corelații directe între utilizarea acestora și creșterea incidenței cazurilor de cancer și a tulburărilor congenitale la om (Regueiro et al., 2015).

Una dintre culturile care necesită un tratament antifungic intens este cultura de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), aceasta fiind considerată cea mai importantă cultură legumicolă la nivel mondial (175,75 milioane de tone/2014) (FAOSTAT, 2014). Tomatele sunt cultivate în mod tradițional în câmp, dar utilizarea spațiilor protejate permite extinderea duratei lor de cultivare și aprovizionare a pieței pentru consum pe tot parcursul anului. Cultura tomatelor în sere și solarii favorizează dezvoltarea bolilor fungice, datorită densității mari de plante în cultură, fapt ce determină creșterea umidității atmosferice (Domínguez et al., 2012). Tomatele sunt afectate de diferiți agenți patogeni și dăunători. Putregaiul cenușiu provocat de către agentul fitopatogen *Botrytis cinerea* este una dintre cele mai răspândite boli fungice cu potențial grav asupra tomatelor, ce poate provoca mari pierderi din punct de vedere economic (Li et al., 2016). Prevenirea și controlul agentului patogen *B. cinerea* depinde atât de utilizarea varietăților

rezistente la diferiți agenți patogeni, cât și de folosirea fungicidelor. În ultimii ani, consumatorii și cercetătorii acordă o atenție sporită atât stării de sănătate cât și aspectelor nutriționale (conținutul de vitamine, elemente minerale, antioxidanți etc.) caracteristice produselor horticoale (Luterotti et al., 2015; Liu et al., 2012). Siguranța și calitatea nutrițională a fructelor de tomate obținute în cultură convențională scade în condiții de stres abiotic asociat cu tratamente fungice împotriva diferiților agenți patogeni. Aceste probleme legate de creșterea calității vieții prin asigurarea calității alimentelor cu impact în nutriție și sănătate au condus la producerea de tomate în sistem ecologic în care este interzisă utilizarea fungicidelor și pesticidelor convenționale. În aceste condiții atenția cercetătorilor este îndreptată spre găsirea unor soluții alternative precum dezvoltarea de produse antifungice noi cu o incidență scăzută de absorbție în fructele de tomate și care pot fi utilizate chiar și în sistemul de agricultură ecologică, ducând la eliminarea substanțelor chimice convenționale din planul acțiunilor fitosanitare în culturile horticoale în scopul menținerii sau chiar îmbunătățirii cantității de antioxidanți din legume. Studiile experimentale demonstrează că, conținutul nutrițional al produselor vegetale obținute în sistem ecologic este mai bogat în vitamina C și compuși fenolici iar aceste produse sunt lipsite de reziduuri de fungicide, în comparație cu produsele vegetale obținute în sistem convențional (Watanabe et al., 2015).

Acest produs vizează reducerea hazardului datorită strategiilor alternative aplicate pentru controlul agentului patogen *Botrytis cinerea* la una dintre legumele care înregistrează cea mai mare utilizare a fungicidelor, scăzând riscul de contaminare și deteriorare a mediului înconjurător în urma utilizării acestora.

În scopul stabilirii unui raport optim clorură de calciu : acid salicilic privind stimularea mecanismului de apărare al plantei de tomate la apariția agentului patogen *Botrytis cinerea* a fost realizat următorul model experimental:

1. Însămânțare cu soiurile Alamina RZ F1 și Sandoline F1 în tăvițe alveolare în substrat pentru răsaduri.
2. În săptămâna a treia de la semănare când tomatele au avut două frunze adevărate au fost repicate în recipiente mai mari într-un amestec de substrat format din turbă și perlit.
3. În săptămâna a șaptea de dezvoltare a fost aplicat primul tratament (50 ml soluție/plantă) după cum urmează:
 - Plante control tratate cu apă distilată;
 - Plante tratate cu o soluție care conține CaCl_2 (concentrație 10 mM);

- Plante tratate cu o soluție care conține SA (concentrație 5 mM);
 - Plante tratate cu o soluție care conține în amestec CaCl_2 (concentrație 5 mM) :SA (concentrație 5 mM);
 - Plante tratate cu o soluție care conține în amestec CaCl_2 (concentrație 5 mM) <SA (concentrație 10 mM);
 - Plante tratate cu o soluție care conține în amestec CaCl_2 (concentrație 10 mM) >SA (concentrație 5 mM).
4. Pentru a stabili efectele primului tratament aplicat, după trei zile de la tratament au fost realizate măsurători ale frunzelor de tomate privind parametrii fotosintetici, conținutul de pigmenți clorofilieni și conținutul total de flavonoide.
 5. În săptămâna a opta de dezvoltare a fost aplicat al doilea tratament (80 ml soluție/plantă).
 6. Pentru a stabili efectele celui de-al doilea tratament aplicat, la trei zile după aplicarea acestuia au fost realizate măsurători ale frunzelor de tomate privind parametrii fotosintetici, conținutul de pigmenți clorofilieni și conținutul total de flavonoide.
 7. În săptămâna a noua plantele de tomate au fost inoculate cu spori de *B. cinerea* și urmărită incidența apariției agentului patogen *B. cinerea* în condiții de seră.

În urma observării și stabilirii atacului de *B. cinerea* în cultura ecologică de tomate înființată, precum și în urma analizelor chimice efectuate s-a putut constata faptul că raportul optim de aplicare al celor două substanțe este cel în care a fost aplicat un amestec CaCl_2 și SA, cu input mai ridicat din partea salicilatului ($\text{CaCl}_2 < \text{SA}$).

Acest aspect este susținut de proprietățile salicilatului de a induce în plante inițierea mecanismelor de rezistență la agenții patogeni, prin stimularea apariției de proteine relaționate cu procesul de patogeneză ("pathogenesis-related"), care cresc rezistența plantelor la infecția ulterioară, pregătind așadar planta pentru posibilele infecții cu patogeni (Santner et al., 2009). Totodată SA se comportă ca un hormon al plantelor (fitohormon), care aplicat exogen, la diferite concentrații are abilitatea de a influența procesele fiziologice ce au legătură cu creșterea rezistenței plantelor la agenții patogeni (Raskin, 1992; LinLin et al., 2012).

Aportul CaCl_2 aplicat în acest amestec, la prevenirea atacului de *B. cinerea*, s-a datorat rolului ionilor de Ca^{2+} în protejarea peretelui celular al plantelor împotriva fungilor secretori de

pectinaze, care dezorganizează lamela mijlocie a peretelui celular al plantelor gazdă, producând astfel, necrozarea și apariția simptomului de putregai (Chardonnet et al., 1999).

De asemenea este bine cunoscut rolul Ca^{2+} în reglarea stomatelor și îmbunătățirea funcțiilor acestora, inputul de CaCl_2 putând influența astfel protejarea plantelor la infecția cu agentul patogen *Botrytis cinerea*, care realizează infecția și prin stomate (Hepler, 2005).

A fost evaluată calitatea nutrițională a fructelor de tomate obținute în condițiile experimentale propuse. Au fost realizate măsurători ale conținutului de Vitamina C, flavonoide și compuși carotenoidici. Cele mai mari cantități de vitamina C, flavonoide și compuși carotenoidici au fost găsite în tomatele neafectate de *B. cinerea* și anume în varianta tratată cu CaCl_2 < SA urmată de varianta tratată cu SA.

Dezvoltarea acestui produs aduce o serie de avantaje:

- nu este toxic și poate fi utilizat pentru combaterea agentului patogen *B. cinerea* în cultura ecologică de tomate;
- poate fi utilizat ca metodă alternativă/complementară pentru combaterea agentului patogen *B. cinerea* în cultura convențională de tomate, conducând atât la o diminuare a cantităților de fungicide convenționale utilizate, cât și la o scădere a costurilor privind combaterea acestei boli, respectiv la o scădere a riscului de contaminare și deteriorare a mediului înconjurător;
- încurajează obținerea și dezvoltarea culturilor în sistem ecologic.

Bibliografie

1. Regueiro J. et al. (2015), Environ Res 140: 37–44.
2. FAOSTAT. (2014), Food and Agricultural Commodities Production. Available online: <http://faostat3.fao.org/home/E>
3. Domínguez I. et al. (2012), Postharvest Biol Tec 72: 1–10.
4. Li L. et al. (2016), Horticultural Plant Journal 2: 154–162.
5. Luterotti S. et al. (2015), Food Control 48: 67–74.
6. Liu C. et al. (2012), J Integr Agric 11: 159–165.
7. Watanabe M. (2015), Food Chem 169: 387–395.
8. Raskin I. (1992), Plant Physiol 99: 799–803.
9. Chardonnet C.O. et al. (1999), Phytochemistry 52: 967–973.

10. Linlin L. et al. (2012), Afr J Biotechnol 11: 9013-9022.
11. Santner A. et al (2009), Nat Chem Biol 5: 301-307.
12. Hepler P.K. (2005), Plant Cell 17: 2142-2155.

REVENDICĂRI

1. Raportul optim între CaCl_2 și acidul salicilic: 1 parte CaCl_2 , 2 părți acid salicilic și 997 părți apă pentru prepararea soluției necesară tratamentului.
2. Perioada optimă pentru tratament și volumul aplicat:
 - se aplică primul tratament în săptămâna a șaptea de dezvoltare a plantelor de tomate și constă în aplicarea unui volum de 50 ml soluție/ plantă;
 - se aplică al doilea tratament în săptămâna a opta de dezvoltare a plantelor de tomate care constă în aplicarea unui volum de 80 ml soluție/ plantă;