



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2019 00159**

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

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/04/2024** BOPI nr. **4/2024**

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

(73) Titular:

- UNIVERSITATEA NAȚIONALĂ DE ȘTIINȚĂ ȘI TEHNOLOGIE POLITEHNICĂ BUCUREȘTI, SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.313, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
- INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE DEZVOLTARE PENTRU CHIMIE ȘI PETROCHIMIE - ICECHIM BUCUREȘTI, SPLAIUL INDEPENDENȚEI, NR.202, 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

(56) Documente din stadiul tehnicii:

PFEIFFER BARBARA, "GREENHOUSE - EXPERIMENTS ON CONTROL OF VENTURIA INAEQUALIS - FIRST RESULTS", INTERNATIONAL CONFERENCES WEINSBERG/GERMANY, PP. 81-85, 2002; LILIANA CRISTINA SOARE, "ONE HUNDRED YEARS OF PTERIDOLOGY IN ROMANIA", CURENT TREND NATURAL SCIENCES, ISSUE 14, VOL. 7, PP. 06-11, 2018

(54) **PROCEDEU DE OBTINERE A UNEI COMPOZIȚII CU EFECT ANTIFUNGIC PENTRU COMBATEREA TULPINILOR FITOPATOGENE CARE AFECTEAZĂ CULTURILE DE MĂR**

Examinator: ing. ANCA MARINA



Orice persoană are dreptul să formuleze în scris și motivat, la OSIM, o cerere de revocare a brevetului de invenție, în termen de 6 luni de la publicarea mențiunii hotărârii de acordare a acesteia

RO 134424 B1

1 Prezenta invenție se referă la un procedeu de obținere a unei compoziții cu efect
antifungic pentru combaterea tulpinilor fitopatogene care afectează culturile de măr (de tipul
3 *Podosphaera leucotricha* (Ellis & Everh.) E. S. Salmon, (1900) responsabilă cu făinarea,
respectiv *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter (1875), microorganism responsabil cu
5 apariția rapănului), bazată pe extract alcoolic obținut din specia de ferigă *Asplenium
scolopendrium* L.

7 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
9 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
11 germenilor 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
13 Phytopathological Society, 2015, pp. 46-51; Giraud T., Gladieux P. and Gavrilets 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
15 Pathology Edition 5. Elsevier Academic Press, pp. 451*].**

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

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

P. leucotricha reprezintă ciuperca responsabilă cu făinarea speciilor de măr (boală
25 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
27 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
29 timpurie. *P. leucotricha* acoperă lăstarii cu un strat de miceliu albicios sub formă de făină în
momentul în care se formează sporii iar toamna acest praf devine brun în momentul apariției
31 fructificațiilor ciupercii. Fructele se usucă fără a forma fructe devenind "flori de ceară". Cel
mai sensibil soi la făinare este Jonathan, pe fructe apărând o rețea fină de țesut brunificat.
33 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,
35 ca primă măsură de prevenire și combatere se recomandă ca lăstarii puternic afectați să fie
tăiați și distruși prin ardere.

37 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
39 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
41 sepale. Pe fructe apar aceleași pete cenușii care pot să crească în dimensiuni și să fie porți
de intrare pentru alte boli și microorganisme.

43 Fungicidele sintetice clasice utilizate împotriva acestor dăunători aparțin unor clase
diverse de compuși chimici (fenilamide, derivați de benzimidazol, dicarboximide, carbamați,
45 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
47 și de efectele toxice care pot fi induse la oameni și animale și prin potențialul lor de poluare

RO 134424 B1

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. 1
3

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. 5
7

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. 9
11
13

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 coajă. 15
17

Brevetul **US 3328748** revendică o metodă de control a făinării și o compoziție împotriva acestei boli, bazată pe săruri de zinc și stibiu N,N-dibutilditiocarbamati ca agenți activi, în diverse formulări cu lignosulfonat de sodiu, alchilfenoxipoli(etilenoxi) etanol, dimetilditiocarbamat de zinc, dimetilditiocarbamat de fier, sare de zinc a etilen bis-ditiocarbamat, N-(triclorometil-tio)-4-ciclohexena-1,2-dicarboxinida. 19
21

Brevetul **WO 2007/139382 A2** revendică o metodă de control a bolilor ce afectează culturile de meri (rapanul și făinarea), bazată pe extract de *Yucca spp* în amestec cu sulf și bicarbonat de potasiu. 23
25

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. 27
29

Brevetul **WO 2010/083307 A2** revendică o metodă de utilizare a unei mixturi conținând compuși pe bază de hidrazonă și cupru pentru controlul creșterii fungice. 31

Brevetul **WO 2017/004334 A1** revendică o metodă de control a făinării la culturile de măr bazată pe o soluție de tratare cu silicon și 3-(difluorometil)-1-metil-N-[(3R)-1,1,3-trimetil-2,3-dihidroinden-4-il]pirazol-4-carboxamida. 33

Brevetul **EP 0511167 A1** revendică o metodă antifungică bazată pe amestecul dintre fungicidele EBI Triazol și ditiocarbamat, în diverse proporții. EBI triazolul utilizat este un fungicid de inhibare a biosintezei de ergosterol (EBI) aparținând clasei de triazoli, iar ditiocarbamatul este selecționat dintre fungicidele Zineb, Maneb, Mancopper, Mancozeb și Propineb. 35
37
39

În literatura de specialitate se prezintă posibilitatea tratării bolilor la măr cu diferite extracte de plante printre care și un extract de ferigă (*Polypodium Vulgare*) (**Pfeiffer Barbara, Greenhouse - Experiments on control of *Venturia inaequalis* - First Results, International Conferences Weinsberg/Germany, 4-7.02.2002, pp 81-85**), cât și studiarea posibilei utilizării a *Asplenium Scolopendrium* pentru tratarea bolilor la culturile de măr (Liliana Cristina Soare, One hundred years of pteridology in Romania, Curent trend in Natural sciences, vol.7, issue 14, pp 06-11, 2018). 41
43
45

RO 134424 B1

1 Scopul acestei invenții este găsirea unei soluții ecologice, ieftine și eficiente, de
2 combatere a tulpinilor patogene care afectează culturile de meri și metoda de obținere a
3 acesteia.

4 Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în obținerea unui nou tip de agent
5 antifungic, împotriva a două tipuri de boli ce afectează culturile de meri (rapăn și făinare),
6 concomitent cu proprietatea de a nu fi toxic pentru mediu și sănătatea umană și a fi ieftin și
7 eficient.

8 Procedeu de obținere a unei compoziții cu efect antifungic pentru combaterea
9 tulpinilor fitopatogene care afectează culturile de măr conform invenției, constă în
10 prepararea unui extract alcoolic din frunze de *Asplenium scolopendrium* L. din material
11 vegetal uscat la temperatura camerei, timp de 10...30 de zile, măcinat apoi până la o
12 dimensiune de 40...100 μm, apoi supus extracției în etanol 96% la o temperatură de 60...82°C,
13 timp de 1...6 h, într-un raport materie vegetală: solvent de 1:20...1:5, urmat de filtrare,
14 extractul astfel obținut putând fi păstrat la rece timp de cel puțin 6 luni.

15 Într-o variantă preferată a procedurii, raportul material vegetal: solvent este de 1:9,
16 la o temperatură de 65°C, timp de extracție 3,5 h, compoziția obținută fiind utilizată pentru
17 tratarea rapănelor la măr produs de *Venturia inaequalis*.

18 Într-o altă variantă preferată a procedurii, raportul material vegetal: solvent este de
19 1:10, la o temperatură de 68°C, timp de extracție 4 h, compoziția obținută fiind utilizată pentru
20 tratarea făinării la măr produsă de *Podosphaera leucotricha*.

21 Invenția prezintă următoarele avantaje:

22 - utilizează materiale ieftine ce se pot recolta din flora autohtonă,
23 - utilizează solvenți netoxici,
24 - este naturală și fără reacții adverse, este ieftină, și nu prezintă acțiune negativă
25 asupra mediului și sănătății umane.

26 Soluția ecologică de combatere a tulpinilor patogene care afectează culturile de meri,
27 este bazată pe extract alcoolic (preparat termic) din frunzele *Asplenium scolopendrium* L.

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

36 Se dau în continuare două exemple de aplicare a invenției.

37 Exemplul 1

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

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

RO 134424 B1

Activitatea antifungică a fost determinată prin măsurarea diametrului de inhibiție 1
[Silva, C.D.S., Figueiredo, H.M.D., Stamford, T.L.M., Silva, L.H.M.D., *Inhibition of* 3
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 5
alcoolic testat, față de 30 mm cât a fost diametrul de inhibiție rezultat după testarea martoru- 7
lui pozitiv, un fungicid comercial de sinteză, pe bază de Ditianon și Piraclostrobin (80%),
utilizat la o concentrație de 15% (conform instrucțiunilor producătorului). Având în vedere că 9
rezultatele sunt apropiate se recomandă utilizarea acestui biofungicid în detrimentul unuia
de sinteză chimică.

Exemplul 2 11

Se procedează la fel ca la exemplul 1, diferă doar microorganismul patogen asupra 13
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* 15
sub acțiunea extractului alcoolic obținut utilizând un raport material vegetal:solvent de 1:10,
supus extracției pentru o perioadă de 4 h, la temperatura de 68°C. 17

Diametru de inhibiție fiind mai mare față de cel obținut în cazul martorului (diametru 19
de inhibiție - 20 mm), un fungicid comercial având ca substanță activă sulful (80%), utilizat
la o concentrație de 3% (conform instrucțiunilor producătorului).

RO 134424 B1

1

Revendicări

3

1. Procedeu de obținere a unei compoziții cu efect antifungic pentru combaterea tulpinilor fitopatogene care afectează culturile de măr **caracterizat prin aceea că**, se prepară un extract alcoolic din frunze de *Asplenium scolopendrum* L. din material vegetal uscat la temperatura camerei, timp de 10...30 de zile, măcinat apoi până la o dimensiune de 40...100 m, apoi supus extracției în etanol 96% la o temperatură de 60...82°C, timp de 1...6 h, într-un raport materie vegetală: solvent de 1:20...1:5, urmat de filtrare, extractul astfel obținut putând fi păstrat la rece timp de cel puțin 6 luni.

5

7

9

11

2. Procedeu de obținere a unei compoziții cu efect antifungic conform revendicării 1 **caracterizat prin aceea că** raportul material vegetal: solvent este de 1:9, la o temperatură de 65°C, timp de extracție 3,5 h, compoziția obținută fiind utilizată pentru tratarea rapănului la măr produs de *Venturia inaequalis*.

13

15

17

3. Procedeu de obținere a unei compoziții cu efect antifungic conform revendicării 1 **caracterizat prin aceea că** raportul material vegetal: solvent este de 1:10, la o temperatură de 68°C, timp de extracție 4 h, compoziția obținută fiind utilizată pentru tratarea făinării la măr produsă de *Podosphaera leucotricha*.



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 147/2024