

WORKSHOP - “BIOPESTICIDE MULTIFUNCTIONALE: CONCEPT – DEZVOLTARE DE PRODUS – EFICIENTA IN SISTEME EXPERIMENTALE DEDICATE”

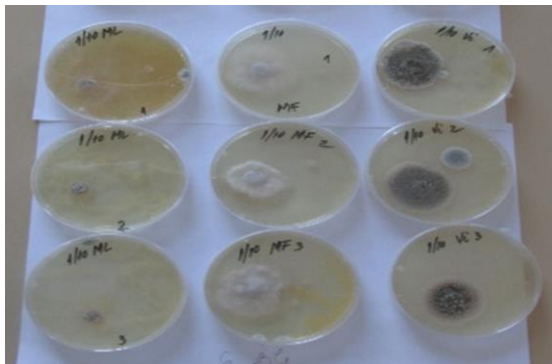
Proiect BIO-PLANT-PROTECT 262 / 2021 – Bio-pesticide multifunctionale pentru protectia livezilor si a semintelor, in scopul cresterii productiei agricole

Dezvoltare biopesticid multifunctional prin corelatii “in vitro”- “in vivo” ale atacului patogen-specific

S.C. Biotehnos S.A.

Institutul National de Textile si Pielarie - filiala ICPI

Universitatea de Științe Agronomice și Medicină Veterinară București



DEZVOLTARE BIOPESTICID MULTIFUNCTIONAL cu eficacitate biologica multipla (antifungic si fertilizare) si specificitate patogenica demonstrata intercorelat

Conceptul de pesticid a evoluat foarte mult în timp, pornind de la eficacitatea produsului, dar cu accent **semnificativ asupra impactului ecologic**. Un numar mare de pesticide a fost retras de pe piață datorita toxicitatii ridicate, timpului de descompunere îndelungat, metodelor de aplicare necorespunzătoare (Howard 1935). Au fost raportate multe cazuri de toxicitate cronică sau acută (Hunt and Bischoff 1960) si creșterea rezistenței speciilor țintă (Mouches et al.), înlocuirea speciilor țintă cu specii dăunătoare rezistente (Regnault-Roger et al, 2005) și contaminarea mediului înconjurător.

Avand in vedere aceste aspecte, conceptul de pesticid a evoluat semnificativ, incluzând urmatoarele proprietati: selectivitate ridicată asupra speciilor țintă, toxicitate redusă asupra organismelor non-țintă; eficacitate ridicată utilizându-se cantități reduse de pesticide; persistenta redusă în mediul înconjurător (descompunere rapidă) pentru a evita bioconcentrarea și biomagnificarea în cadrul lanțului alimentar, în scopul prevenirii dezvoltării rezistenței organismelor.

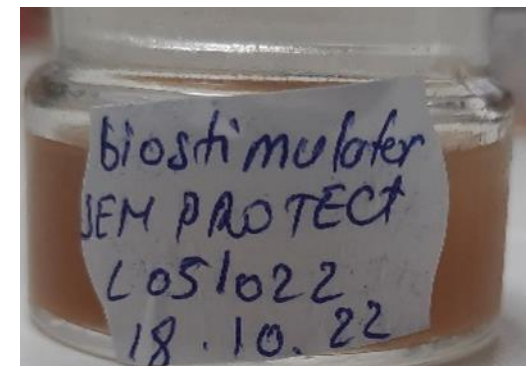
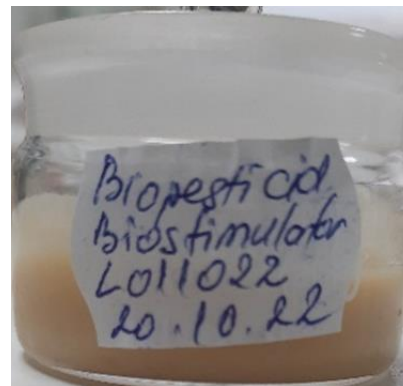
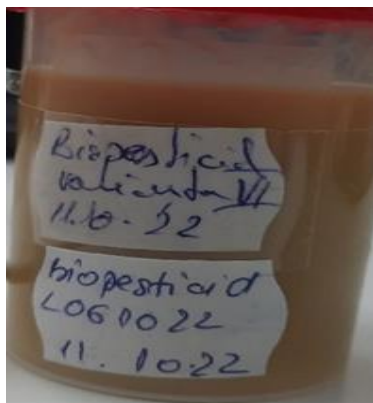
În acest sens, pentru a combate dăunătorii și bolile majore ale culturilor, **abordările biotehnologice includ: utilizarea pesticidelor pe baza de plante; utilizarea pesticidelor microbiene; feromonii si atractanții in gestionarea daunatorilor; protectori inclusi in plante (PIP) / culturi modificate genetic.**

Asocieri multicomponent (extracte din fam. Solanaceae si Asteraceae/Fabaceae cu uleiul de camelina si biostimulatori rezultati din hidrolizate de keratina si colagen din industria pielariei, valorificand si reconditionand in agricultura circulara)

Dezvoltarea unor **produse cu utilizare in protectia plantelor, cu efect antifungic si fitostimulator**, ce au la baza substante biologic active obtinute din surse naturale.

Dezvoltare formule:

- **biopesticid cu efect antifungic** pe baza de glicoalcaloizi din Solanum Lycopersicum, ulei de camelina si extract din semnite Schinduf, specia Trigonella foenum-graecum,
- **biostimulator si fertilizator cu rol fitoprotector** pe baza de extract de Schinduf/Craita conditionat in butilenglicol si doua tipuri de hidrolizate proteice si
- **biopesticid cu activitate ambivalenta, antifungica si de fertilizare**, pe baza de glicoalcaloizi din Solanum Lycopersicum, ulei de camelina, extract de Craita/Schinduf si doua tipuri de hidrolizate proteice.



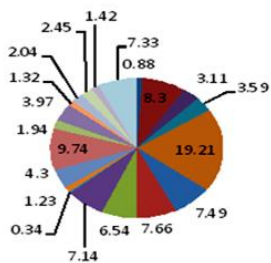
ELEMENT DE INOVARE – HIDROLIZATE PROTEICE

In contextul promovarii economiei circulare, utilizarea resursele secundare de collagen si cheratina din industria de prelucrare a pielii, reprezinta o alternativa economica cu impact favorabil asupra mediului. Resursele secundare provin dintr-o materie prima generata in bioeconomia, iar produsele rezultate din aceste resurse secundare se pot adresa deopotriiva bioeconomiei, dar si altor ramuri industriale si de nisa.

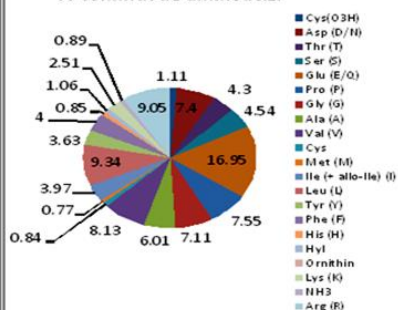
Extractele proteice realizate de INCDTP-Sucursala ICPI, au fost asociate intre ele pentru potentarea efectelor nutritive si de protectie sistemica a plantelor in diverse perioade de vegetatie si s-au realizat doua combinatii proteice:

I. Combinatie proteica collagen-cheratina, GHC3P-B, cu gelatina, hidrolizat de collagen si hidrolizat de cheratina, avand urmatoarele caracteristici specifice: min. 12 % substanta uscata; max. 8 % cenusa; min. 14 % azot total, raportat la substanta uscata; min. 0,50 % azot aminic, raportat la substanta dermica;

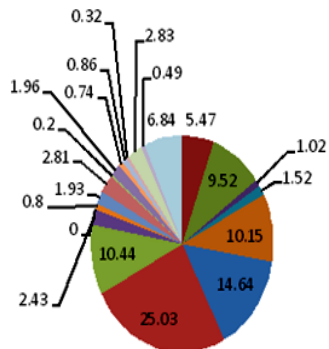
Hidrolizat de cheratina martor,
% continut de aminoacizi



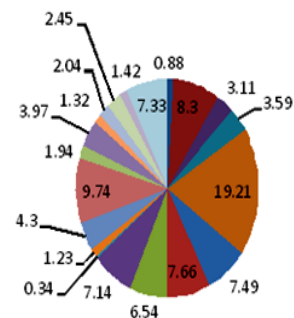
Hidrolizat de cheratina HKU-B,
% continut de aminoacizi



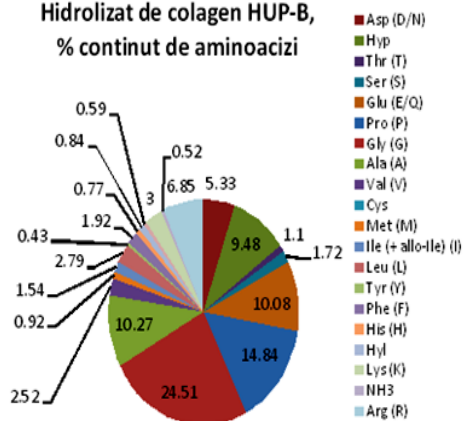
Hidrolizat de collagen martor,
% continut de aminoacizi



Hidrolizat de collagen HCE-B
% continut de aminoacizi

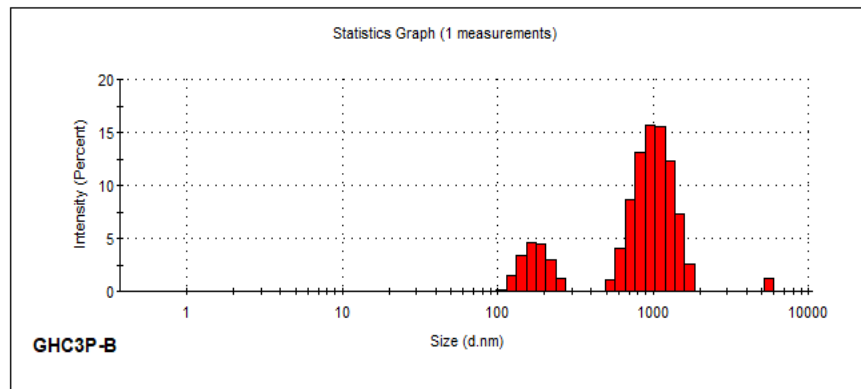
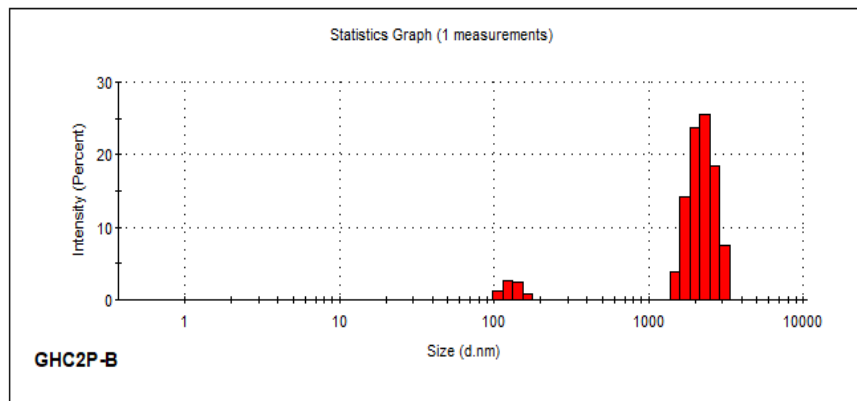


Hidrolizat de collagen HUP-B,
% continut de aminoacizi



Combinatie collagenica, GHC2P-B, cu gelatina si hidrolizat de collagen, avand urmatoarele caracteristici specifice: min. 12 % substanta uscata; max. 8 % cenusa; min. 15 % azot total, raportat la substanta uscata; min. 0,60 % azot aminic, raportat la substanta dermica.

Masuratorile de intensitate a luminii reflectate in probele de combinatii proteice indica atat populatii de particule mici si medii, in domeniul 100-1000 nm, cat si populatii de particule cu dimensiuni mai mari de 1000 nm, dar mai mici de 6000 nm. In compozitia GBC2P-B gasim o populatie de 7% particule de 100-200 nm si o populatie preponderanta de 93% particule de 1500-3000 nm. In compozitia GBC3P-B gasim o populatie de 14% particule de 100-200 nm, o populatie de 85% particule de 500-1500 nm si o populatie minoritara de 1% particule de 5560 nm.



Marimea si distributia particulelor nanometrice in combinatiile proteice



Rafinarea si conditionarea specifica a extractelor de colagen - Pentru compozitiile proteice, este importanta prezenta particulelor cu dimensiuni mici, acesta fiind un indiciu al prezentei in compozitii a aminoacizilor liberi si a oligopeptidelor, componente capabile sa penetreze membranele celulare ale plantelor.



Tagetes patula - Crt
FROM ROMANIAN ORGANIC FARMING

GLYCAM (camelina oil and steroidal alkaloids) –
BIOTEHNOS' previously patented fungicide –
active in apple orchards

Tagetes spp. extract/Trigonella foenum-
graecum Ska – anti-moniliosis agents



Camelina oil

Tehnologii de extractive particularizate pe componente active, validari de procese



Confirmari structurale prin analize fizico-chimice, realizare SPECIFICATIE TEHNICA

EFFECT ANTIFUNGIC DEMONSTRAT PE TULPINI PATOGENE REPREZENTATIVE PENTRU ATACUL FUNGIC IN LIVADA

4 tulpini microbiene izolate din sistem real:
Fusarium spp.,
Monilinia spp.,
Botrytis cinerea
Alternaria.

Metoda de difuzie cu discuri de hârtie de filtru-filter paper disc diffusion, s-a utilizat principiul adaptat metodei Kirby-Bauer- discuri impregnate în substanța de testare.

Metoda includerii în mediul de cultură.

S-a utilizat mediul de cultura PDA (potato-dextrose-agar)

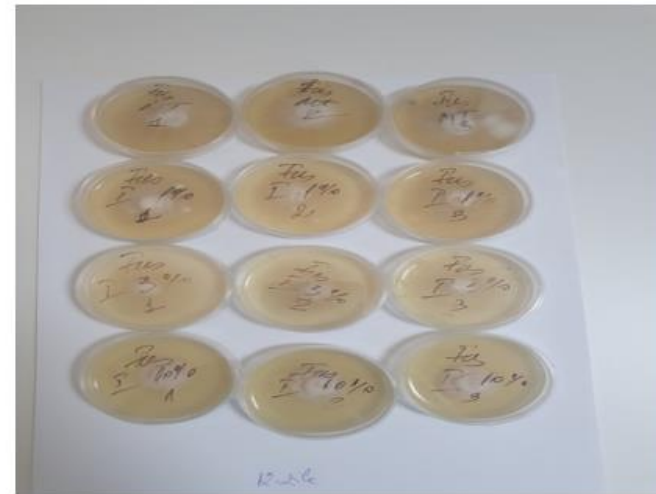
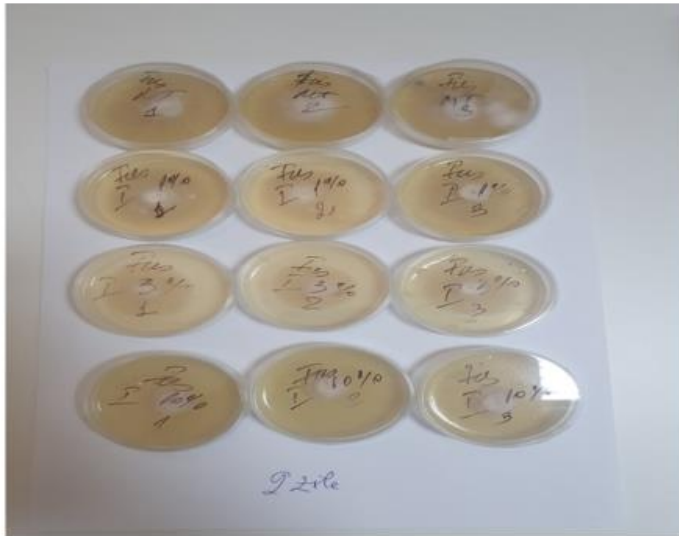
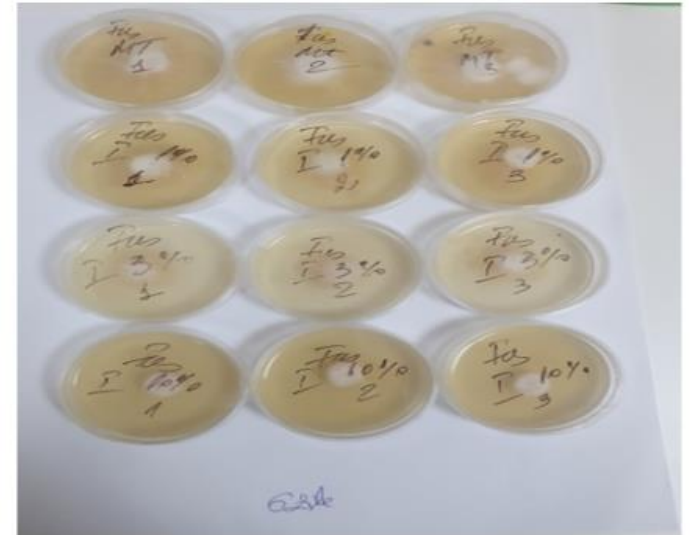
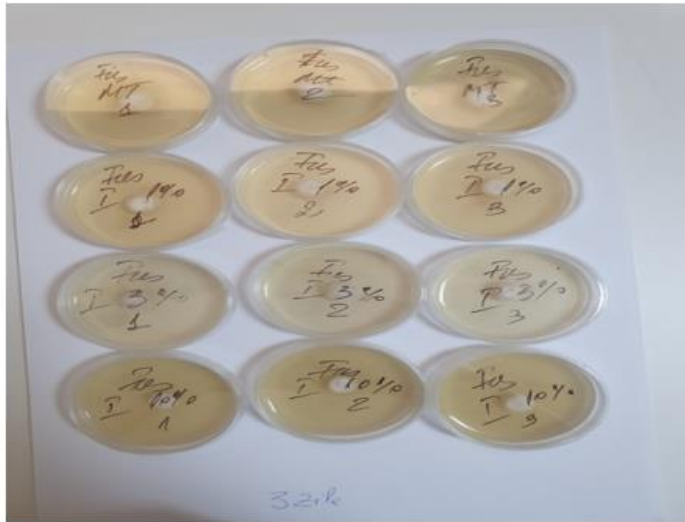


Evaluarea capacității complexului vegetal cu extracte proteice de protecție antifungică și stimulare a germinății și creșterii

Janakiev și colab. (2022) susțin ca ciupercile fitopatogene au un impact negativ asupra producției din punct de vedere cantitativ și calitativ, diminuând randamentul cu până la 80% iar agenții patogeni responsabili de aceste inconveniente sunt ciupercile din genul *Fusarium* și *Monilinia* (Janakiev și colab. 2022). Specii ale genului *Alternaria* populează numeroase specii de plante agricole și horticoale și sunt prezente în microflora semintelor, afectând indicatorii calitativi ai acestora (Raicu și Băciu, 1978, Berca L.M. și Cristea S., 2015).

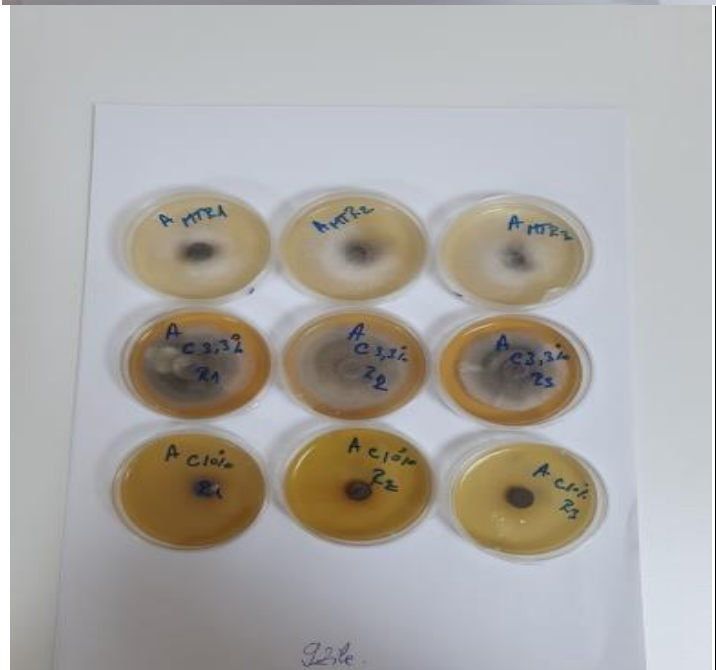
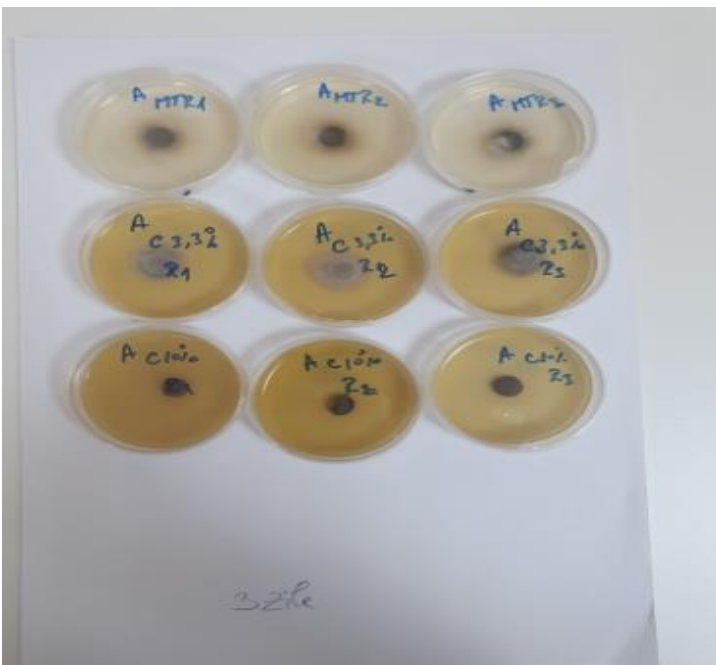
Botrytis cinerea este responsabil de apariția putregaiului cenușiu la plantele atacate și implică o degradare a țesuturilor organelor, cauzând pierderi mari de recoltă (Caicheng și colab., 2019). De asemenea, ciuperca populează semintele, alterând calitatea acestora și germinatia.

REZULTATE



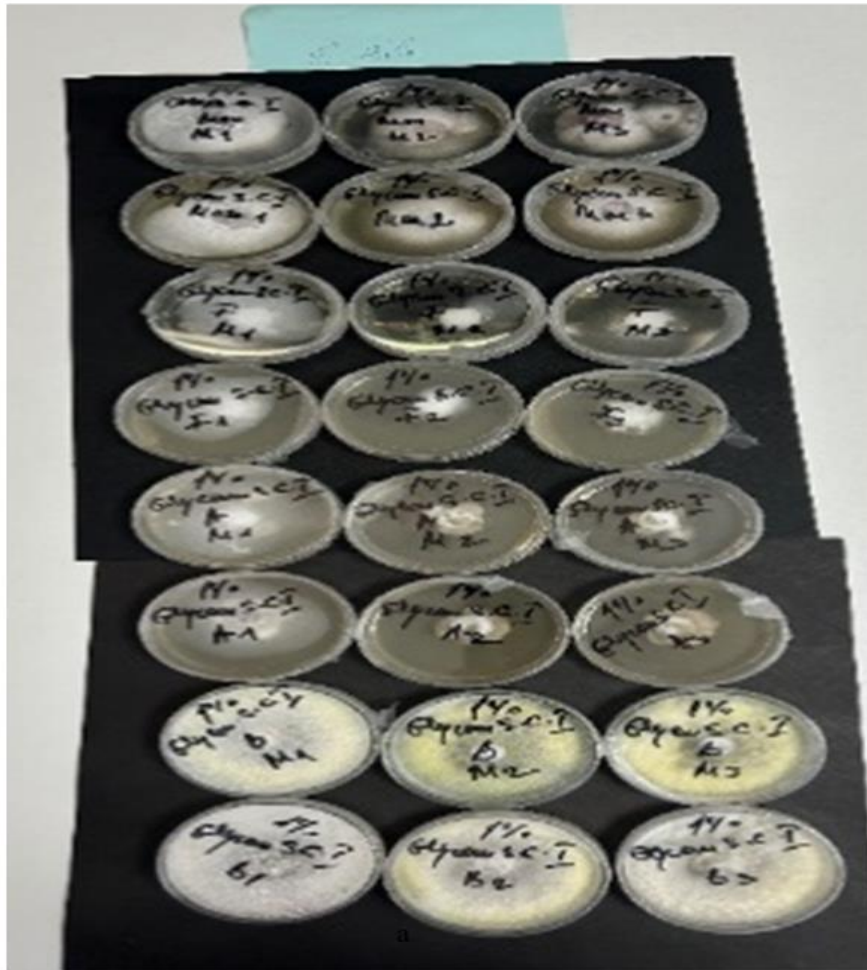
Cresterea *Fusarium* spp. după 3,6,9,12 zile de incubare (**0,5% gly (glicoalcaloid)** + **6% ulei de camelina**+ **10% extract de skinduf (ska)**)

REZULTATE



Alternaria spp.
după 3,6,9,12 zile
de incubare

REZULTATE



Cresterea miceliana a ciupercilor *Monilinia* spp., *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Botrytis cinerea* dupa 3zile (a), 6zile (b) (test AI. GLY T)(cod vas Gly SCI)-1% - rezultat USAMV

REZULTATE



Patogenul	Var cu Sk	3 zile / Ø (mm)	Eficacitate (%)	6 zile/ Ø (mm)	Eficacitate (%)	9 zile / Ø (mm)	Eficacitate (%)	12 zile/ Ø (mm)	Eficacitate (%)
Monilinia spp	Control	23,3	-	48,3	-	50,3	-	51,3	-
	1%	13,1	43,7	19,3	60,9	38,3	23,8	40,3	21,4
	3%	10,3	55,7	22,6	53,2	39,3	21,8	41,9	18,3
	10%	0	100	6,3	86,9	13,1	73,9	19,3	62,3
Alternaria spp	Control	4	-	23,9	-	28,3	-	33,3	-
	1%	3	25	10,3	56,9	19,6	30,7	24,3	27
	3%	3	25	16,3	35,9	21,3	24,7	26,3	21
	10%	0	100	4	83,2	10,3	63,6	15,3	54,0
Fusarium spp	Control	22,3	-	47,6	-	51,3	-	51,8	-
	1%	12,4	44,3	22,6	52,5	34,8	32,1	42,3	18,3
	3%	13,3	40,3	26,3	44,7	35,3	31,1	42,6	17,7
	10%	0	100	7,3	84,6	11,3	77,9	17,3	66,6
Botrytis cinerea	Control	19,3	-	48,3	-	50,3	-	51,8	-
	1%	7,7	60	14,8	69,3	32,3	35,7	39,3	24,1
	3%	11,3	41,4	19,6	59,4	34,3	31,8	40,3	22,2
	10%	0	100	8,6	82,1	12,3	75,5	18,3	64,6

REZULTATE

Patogenul	Var cu Craite	3 zile / Ø (mm)	Eficacitate (%)	6 zile/ Ø (mm)	Eficacitate (%)	9 zile / Ø (mm)	Eficacitate (%)	12 zile/ Ø (mm)	Eficacitate (%)
Monilinia spp	Control	21,9	-	45,3	-	49,3	-	50,3	-
	1%	12,4	43,3	22,1	51,2	31,4	36,3	44,3	11,9
	3%	11,4	47,9	28,1	37,9	42,1	14,6	45,0	10,5
	10%	0	100	12,1	73,2	15,4	68,7	24,3	51,6
Alternaria spp	Control	6	-	22,3	-	28,3	-	33,3	-
	1%	4		10,9	51,1	22,3	17,6	27,3	18
	3%	4		14,3	35,8	23,8	12,3	27,3	18
	10%	1	83,3	4	82	10,3	63,6	20,6	38,1
Fusarium spp	Control	24,1	-	45,3	-	50,3	-	51,3	-
	1%	11,3	53,1	20,9	53,8	38,1	24,2	45,9	10,5
	3%	13,3	44,8	29,9	33,9	42,3	15,9	46,3	9
	10%	0	100	8	82,3	12,3	75,5	24,4	52,8
Botrytis cinerea	Control	21,1	-	43,1	-	46,8	-	49,3	-
	1%	14,9	29,3	21,3	50,5	28,6	38,8	33,6	31,8
	3%	13,6	35,5	29,3	32	31,1	33,5	38,3	22,3
	10%	0	100	4	90,7	13,1	72	18,3	62,8



REZULTATE in sistem real – EVALUARE IN CONDITII DE DEPOZITARE

Locul desfășurării testărilor: Institutul de Cercetare – Dezvoltare pentru Pomicultură Pitești – Mărăcineni (ICDP Pitești-Mărăcineni).

Cultura (specii, soiuri): **măr**, soiul: **Idared**.

Doze experimentate: 1 doză (o concentrație): 1,0%.

Agentul de dăunare: **putregaiul brun - *Monilinia fructigena***

putregaiul cenușiu - *Botrytis cinerea*

fuzarioza - *Fusarium* spp.

alternarioza - *Alternaria* spp.

Modul de aranjare a experienței: 3 repetiții în bloc complet randomizat, 30 fructe/repetiție

Mărimea lotului: 150 fructe

GLY Cam Stim Combo I (glicoalcaloizi din copili de tomate) + ulei de camelina + extract butilen glycol de skinduf Ska + hidrolizat proteic CHC3B, GLY Cam Stim Combo II (glicoalcaloizi din copili de tomate) + ulei de camelina + extract butilen glycol de crăițe + hidrolizat proteic CHC2 și un produs antifungic GLY Cam – Plus – GLY T (glicoalcaloizi din copili de tomate) + ulei de camelina + extract butilen glycol de skinduf Ska.



Figura 10. V1 - Martor netratat



Figura 11. V2 - GLY Cam Stim Combo I (GLY T I) – 1,0%



Figura 12. V2 - GLY Cam Stim Combo II (GLY T II) – 1,0%



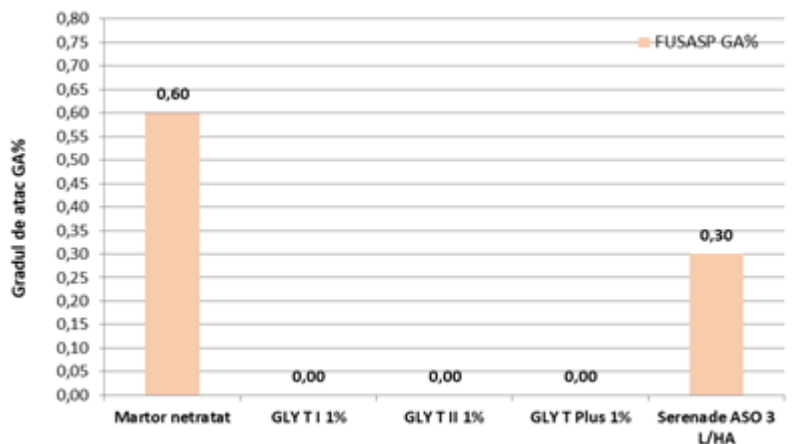
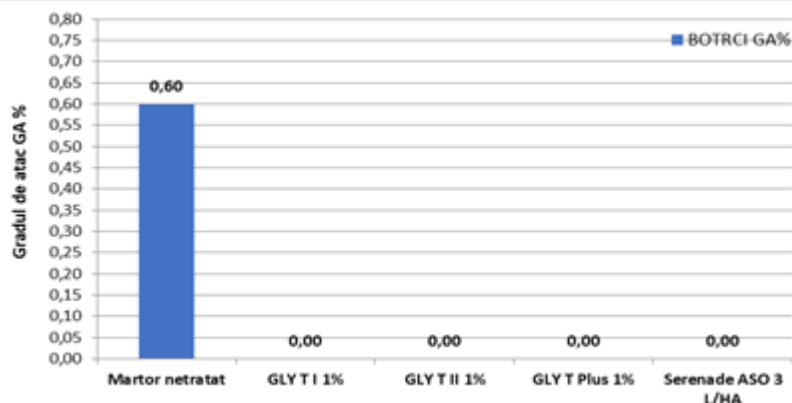
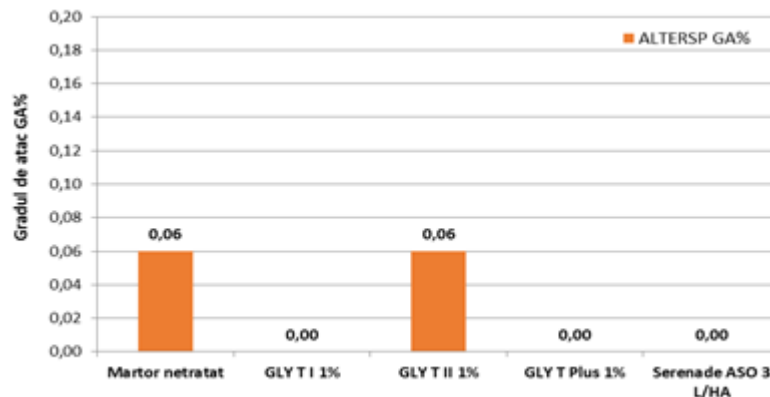
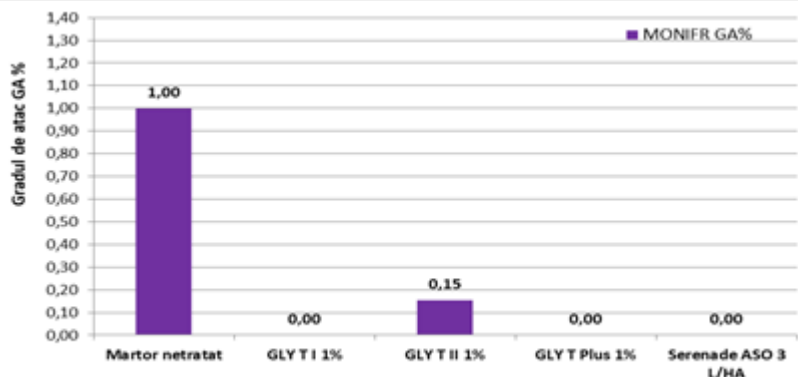
Figura 13. V4 - GLY Cam Plus (GLY T) – 1,0%



Figura 14. V5 - Produs standard (Serenade@ ASO) - 3l/ha

Efectul aplicării biopesticidelor asupra dezvoltării patogenilor specifici pe parcursul perioadei de păstrare și asupra calității fructelor

REZULTATE in sistem real – EVALUARE IN CONDITII DE DEPOZITARE



În urma determinărilor efectuate în perioada 24.10.2023 – 03.03.2024, s-au evidențiat V2 (GLY Cam Stim Combo I) și V4 (GLY Cam Plus), **variante în care nu s-au dezvoltat boli de depozit.**

În cazul variantei tratate cu GLY Cam Stim Combo II-V3, s-a manifestat patogenul *Monilinia fructigena*, cu un grad de atac de 0,15% și *Alternaria* spp. cu un grad de atac de 0,06%. În cazul variantei standard (V5), pe parcursul perioadei de depozitare, gradul de atac al patogenului *Fusarium* spp. a fost de 0,30%, comparativ cu varianta martor netratat V1, unde s-a evidențiat *Monilinia fructigena* cu grad de atac de 1,00%, *Botrytis cinerea* - GA 0,60%, *Fusarium* spp. GA 0,60% și *Alternaria* spp. cu un GA de 0,06%

REZULTATE in sistem real – EVALUARE IN CONDITII DE DEPOZITARE

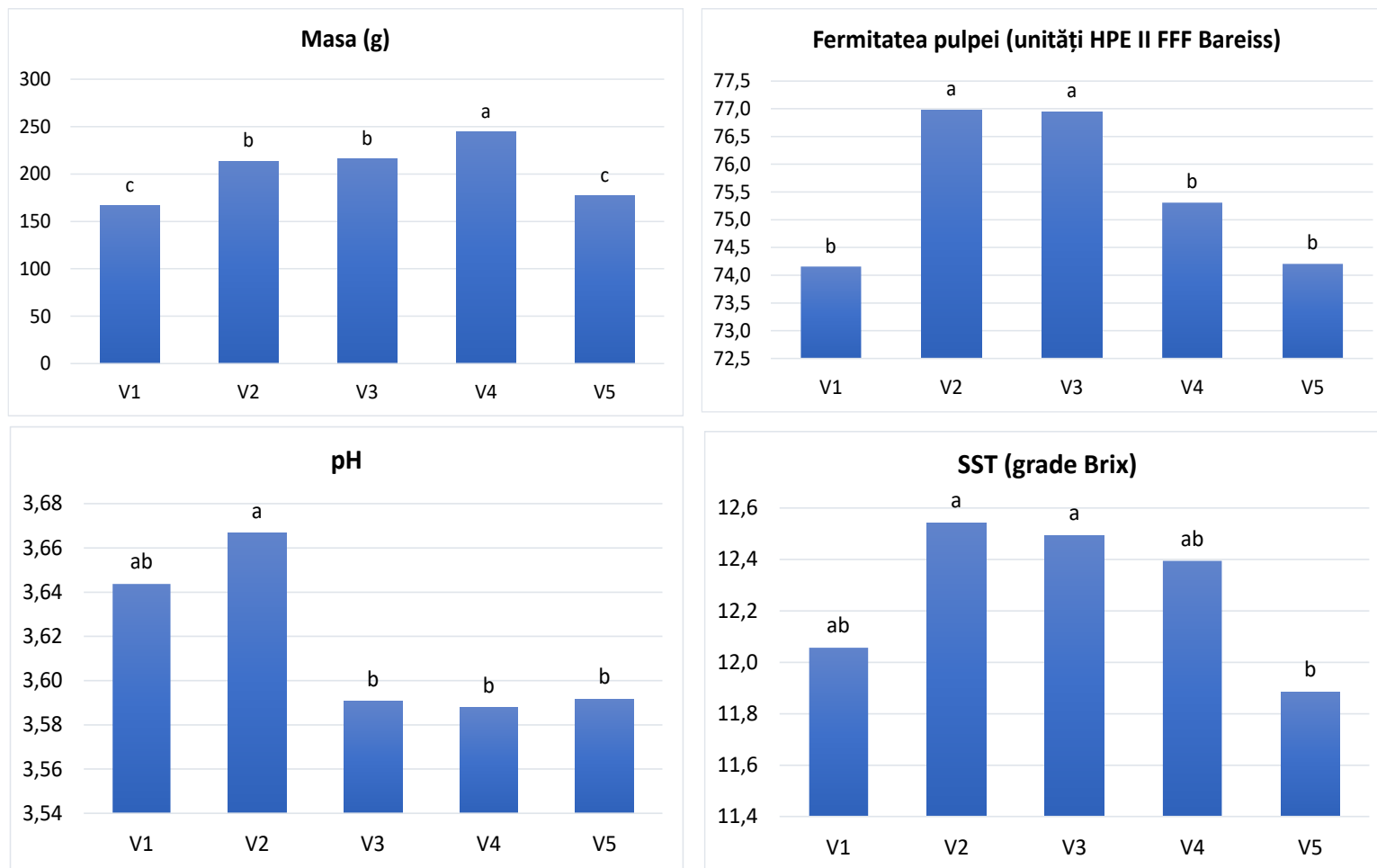


Figura 16. Influența variantelor aplicate asupra masei fructelor, fermității pulpei, pH-ului și a conținutului total de substanță solubilă din fructe la specia măr, soiul 'Idared', ICDP Pitești-Mărăcineni, 2023-2024

“in vitro”

Testarea combinatiei cu skinduf I asupra cresterii masei vegetative a patogenilor monitorizati a aratat ca la concentratia 10% s-au obtinut cele mai mari valori ale procentului de inhibare. La concentratia de 3% s-a observat un efect de stimularea a cresterilor vegetative.

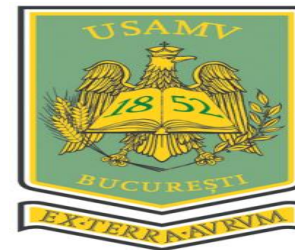
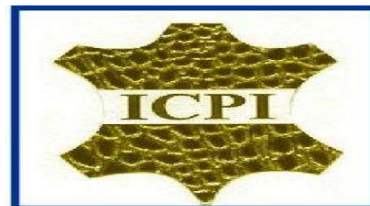
Testarea combinatiei cu extractul de craite (II) în concentrație 10% au redus creșterile miceliene ale patogenilor monitorizați. Eficacitatea a fost maxima du pa 3 zile de la incubare la patogenii analizati cu exceptia ciupercii *Alternaria* spp la care s-a observat o crestere usoara inca din primele 3 zile. **La varianta 1% eficacitatea a fost peste 50% dupa 6 zile de la incubare.** La varianta 10%, procentul de inhibare a fost cuprins intre 100 si 83% dupa primele 3 zile de observatie pana la circa 60-70% dupa 9 zile de la incubare.

“in system real” – depozitare mar

În urma determinărilor efectuate pe parcursul perioadei de păstrare a fructelor s-au evidențiat V2 (GLY Cam Stim Combo I) și V4 (GLY Cam Plus), variante în care nu s-au dezvoltat boli de depozit.

Toate variantele tratate au influențat semnificativ calitatea fructelor. Fertilizarea cu GLY Cam Stim Combo I-1,0% din V2 a sporit masa fructelor (deși efectul a fost mai redus comparative cu cel înregistrat la fertilizarea cu GLY Cam Plus (CLY T)-1,0%, din V4), fermitatea pulpei fructelor (similar tratamentului cu GLY Cam Stim Combo II-1,0%, aplicat în V3), pH-ul sucului (doar ne semnificativ, comparativ cu martorul netratat), conținutul total de substanță solubilă (doar ne semnificativ, comparativ cu varianta martor).

MULTUMIRI ECHIBEI



BIOTEHNOS

*Departamentul C&D si
colaboratorii*

Universitatea de Științe
Agronomice și Medicină
Veterinară București

prof.univ.dr. STELICA CRISTEA
si colectivul de cercetare

Institutul National de Textile si
Pielarie - filiala ICPI

dr.ing. MIHAELA NICULESCU
si colectivul de cercetare

**INSTITUTUL DE CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
POMICULTURA PITESTI, MARACINENI**

Dr.ing. Mirela Calinescu

